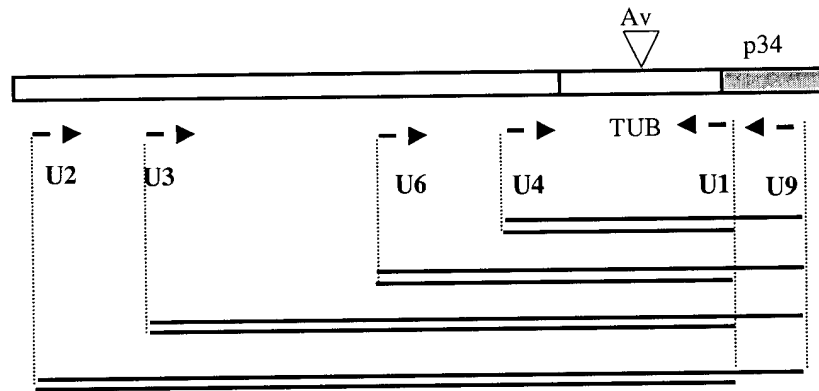


[illegible]

Figure 1.



Figure 2. Amplifications of us-p34 regions with primers U1, U2, U3, U4, U6 and U9.



Open Reading Frame of p34



79 bp deletion of the *us-p34* region of tuberculous mycobacteria (*TUB*)



Primer

Figure 3. New us-p34 sequences (5' to 3')

Primers used to obtain the sequence (either U2-U1 ; U3-U1 ; U4-U1 ; U2-U9 ; U3-U9 or U4-U9) and the amplicon size are as indicated. Sequence variations (point mutations) found in the same species (for instances *M. ulcerans*) are also indicated when known.

M. intracellulare U4-U1 Length: 216 (SEQ ID NO 57)

```

1  GTTCTACCTG TGCTGAGCAA GCTCCGGTGA TACCGACCGT CTCGCCGGAG
51  GGCCGCCGGG GGCCTCGCCG CCCAAGACAG TGGCGGCGCC ACCGGTTCCC
101 GCACGTGCGC TAGCGTGGGT GATCGACCGC GTCGCAATGC GGTGACGCGC
151 CTGCAAGCAC AGCGTCGCAT CGCCACCGCG GCGCCCGCTC GGCACTTAAA
201 GGCACTGGTA GCAACA

```

M. avium U2-U9 Length: 881 (SEQ ID NO 58)

Underlined, the mutated nucleotide which allows to differentiate *M. avium* from *M. paratuberculosis*.

```

1  TCGTAGCTGG CTTCTCGTC GGTCCACAGC GCCCGCATCG CTTCCAGGTA
51  TTCGCGCAGC ATGGTGCGGC GCCGGCCCGC CGGCACGCCG TGGTCGGCGA
101 GTTCGTCGGT GTTCCAGCCG AACCCGACGC CGAGGCTGAC CCGGCCGCCG
151 GACAGATGGT CAAGGGTGGC AATACTTTTC GCCAGCGTGA TCGGGTCGTG
201 TTCGACCGGC AGGGCCACCG CGGTGGACAG CCGCACCCGC GAGGTGACGG
251 CACAGGCCGC GCCCAGACTG ACCCACGGGT CCAGGGTGCG CATGTAGCGG
301 TCGTCGGGCA GCGACGCGTC GCCGGTGGTC GGGTGCGCGG CCTCCCGCTT
351 GATCGGGATA TCGGTGTGTT CCGGCACGTA GAAGGTCGCA AACCCGTGGT
401 CGTCGGCAAG CTTGCGGGCC GCAGCCGAG AGATGCCACG GTCGCTGGTG
451 AAAAGCACAA GCCCGTAATC CATGCAGTGA ATTAGAACGT GTTCTACCTC
501 TCGGGGGCAA GCTGTCGTGA TACGGACCGT CTCGCCGCGC GGTGCTCTCC
551 GAAGCCCGCG GGCAAGCCAA TGGCGACGGC ACCGGCCGTC GCACGTGCGC
601 TAGCGTGGGT GATCGACCGT GTCGCTCGCG CAGTGACGCG CCTGCAAGCA
651 CCGCGTCGCA TCGCAACCGT GGCGCCCGCT CGGCACTAAA AGGCAGTGGA
701 AGCAACAGGA GGAGCCATGA CCTACTCTCC CGGCAGCCCC GGATATCCAC
751 CGGCGCAGTC TGGCGGCACC TATGCAGGCG CCACACCATC TTTCGCCAAA
801 GACGACGACG GCAAGAGCAA ACTCCCGCTC TACCTCAACA TCGCCGTGGT
851 CGCCCTGGGT TTCGCGGCCT ACCTGCTGAA T

```

M. gastri U3-U1 Length: 642 (SEQ ID NO 59)

2014-09-24 10:44:00

1 GTGCGCCGGC GCGCCGGCGG CACGCCATGG TCGGCGAGTT CGTGC GCCCG
51 GCGGCACGCC ATGGTCGGCG AGTTCGTCGG TGTTCCAGCC GAATCCGACG

Figure 3-continued

101 CCGACGCTGA CCCGGCCCCC GGATAGTGGT CCAGCGTGGC AATGCTTTTG
151 GCCAGCGTGA TCGGGTCATG CTCCACCGCA GCGCAACCGC GGTGACAGC
201 CTGACTCGGG AGGTGACCGC TGAAGCCGCA CCCAAGCTCA CCCACGGGTC
251 CAGGGTGCGC ATATAGCGGT CGTCCGGCAG CGACGCGTCA CCCGTCGTGG
301 GATGGGCGGC TTCCCGTTTG ACCGGGATAT GCGTGTGTTC GGGCACGTAG
351 AGAGTGCGAA AGCCATGGTC GTCGGCCAGT TTCGCGGCTG CCGCCGGGGA
401 GATCCACCGG TCGCTGGTGA AAAGGACAAG CCCGTAATCC ATGAACAGAA
451 TTAGAACGTG TTCTACCTCC GCCGGGCAAG CGGCTCATCT GCCGATCGGC
501 AGCGGTGCCG GGGCCGGTAT CGCGGGCGGC AAGGTCGCCA CGGCGTGAGT
551 ACCCGGCCGT GCGCTAGCGT GGGTCATCGA ATTGTGTCGC AGGGAGCAAT
601 CGTCGCATTG CAGCAGGCGT AGCGACGGCA CCGGAGGTAA CA

M. gordonae U3-U9 Length: 745 (SEQ ID NO 60)

1 GTGCGACGAC GGCCGGCCAG CACGTTATGG TCGGCGAGCT CGTCGGTGTG
51 CCAGCCGAAC CCGACGCCGA GGCTAACTCG CCCGCCGGAC AGGTGATCCA
101 GCGTGCGGAT GCTTTTCGCC AAGGTGATCG GGTGATGCTC GACCGGCAAC
151 GCGACTGCCG TCGACAGCCG CACCCGCGAC GTCACAGCAC ACGCCGCGCC
201 CAGGCTCACC CAGGGATCCA GGGTGCGCAT ATAACGGTCG TCGGGCAGCG
251 TCTCGTCTCC GGTGGTGGGA TGAGCCGCCT CGCGTTTGAT CGGGATATGC
301 GTGTGTTCGG GTACGTAGAA GGTGTGAAAA CCATGTGTGT CGGCAAGTTT
351 CGTGCTGCC GCAGGGGAAA TACCGCGATC GCTGGTGAAC AGAACGAGGC
401 TGTAGTCCAT GCCCAATTT AGAACGTGTT CTA TTTTG G CCGCAGCCGA
451 CCCCCTGCCG CGACGGGCAC TAGTTGTCAG AGGTGCGCTA GCGTGGTTGA
501 TCGAATGCGT CGCAGGCCGT ACCGCGTCGT GCCGAAGCAG AGGGGCCGTG
551 ACGGCACCGG AAGCAACAGG AGGACTTATG ACCTACCCGC CCGGTAGTCC
601 CGGATATCCA TCCGCCAGC AGTCGGCCGG CAACTACGGC AGCTCCGCTC
651 CCGCCGCCCG CCAGTCCGAG CCGGGTGAAA GCAAGCTGGG ACTGTACCTG
701 GCCATCGCGG TGGCGGCCCT GGGCCTACTG GCGTACCTCT TCAGC

M. kansasii U3-U9 Length: 785 (SEQ ID NO 61)

1 GTGCGCCGGC GCGCCGGCGG CACGCCATGG TCAGCGAGTT CGTCGGTGTG
51 CCAGCCGAAT CCGACGCCGA CGTGACCCG CCCCCGGAT AGGTGGTCCA

101 GCGTGGCAAT GCTTTTGGCC AGCGTGATCG GGTCATGCTC GACCGGCAAC
 151 GCAACCGCTG TTGACAGTCG GACCCGGAAG GTGACCGCTG AAGCCGCGCC
 201 CAAACTCACC CACGGGTCCA GCGTGCGCAT ATAGCGGTCG TCCGGCAGCG
 251 ACGCGTCACC CGTCGTGGGA TGGCGGCCTC CCGTTTGACC GGGATGTGCG
 301 TGTGTTTCGGG CACGTAGAAA GTGCGAAAGC CATGGTCGTC GGCCAGTTTC
 351 GCGGCTGCCG CGGGAGAAAT GCCACGGTCG CTGGTGAAAA GGACAAGCCC

Figure 3-continued

401 GTAATCCATG AACAGAATTA GAACGTGTTC TACCTCAGCC GGGCAAGCGG
 451 CTCATCCGCC GATCGTCGGC AGTGGTGACG GGGCCGGTAT CACGGGGGCA
 501 AGGTCGCCAC GGC CGAGTA CCAGGCCGTG CGCTAGCGTG GGTATCGAA
 551 TCGTGTCGCA GGGAGCAATC GTCGCATTGC AGCAGGCGTA GCGACGGCAC
 601 TGGAGGTAAC AGGAGGAGCC ATGACCTACT CACCAGGTAG TCCCGGATAT
 651 CCGCCCGCGC AATCGGCCGG CTCCTACGGA GCCGCCACAC CGTCTTTCGC
 701 CAAGGCCGAC GACGGTGTC AAGCTTCC GATGTACCTG AGCATGGCGG
 751 TTGCCGCGCT CGGGCTGCTG GCGTATCTGG CCAGC

M. malmoense U2-U1 Length: 741 (SEQ ID NO 62)

1 TCGTAGGCCG CTTCTCCTG GGTCCACAGC GCCCGCATTG CCTCGATGTA
 51 TTCACGCAGC ATGGTGCGAC GGC GCCCGG CGGCACGCCG TGGTCGGCGA
 101 GCTCGTCGGT GTTCCAGCCA AACCCAACGC CGAGGCTGAC CCGGCCGCCG
 151 GACAGGTGGT CCAAGGTGGC AATAC'TTTC GCCAGCGTGA TCGGGTCGTG
 201 CTCGACGGGC AGCGCCACCG CGGTAGACAG CCGCACCCGC GACGTCACGG
 251 CGCACGCCGC GCCCAGGCTC ACCCACGGGT CTAGCGTGCG CATATAGCGG
 301 TCGTCCGGCA AGCGACGCGC CACCCGTCGT CGGATGGGCC GCCTCGCGCT
 351 TGACCGGGAT ATGGGTGTGT TCCGGCACGT AGAACGTCTG GAAGCCGTGG
 401 TCGTCGGCAA GTTTGGCGGC TGCCGCCGGG GAGATGCCGC GGTGCGTGGT
 451 GAAAAGTACA AGCCCGTAAT CCATGGACAG AATTAGAACG TGTTCTACCG
 501 GCGGTGGGCA AGCCGCTGCG CCGCCGAGGA TCTCGACTCG GACCCACAAC
 551 ACTGGTCGGC GCCGGGCGCG CCGACAGGTC GGTGCGGCCG GCACGGGCGG
 601 CCGAACGTGC GCTAGCGTGG GTGATCGATC GCGTCGCAAC GCAAGATCTC
 701 ATGCGGCGTC GCTGAGGGTC TTGAAGGCAC TGAAGCAAT A

M. simiae U2-U1 Length: 748 (SEQ ID NO 63)

1 TCGTATTGGG CTTCTTCCTG CGTCCACAGC GCCCGCATGG CTTCCAGGTA
 51 CTCGCGCAGC ATGGTCCGCC GGC CGCGCCG CGGCACGTTG TGGTCGGCCA

101 GTTCGTCGGT GTTCCAACCG AACCCGACGC CCACACTGAC CCGTCCGCCG
 151 GACAGATGGT CCAGGGTGGC GATGCTTTTC GCCAGCGTGA TCGGGTCGTG
 201 CTCGACGGGC AGCGCGACCG CGGTGGACAG TCGCACCCGC GAGGTGACCG
 251 CGCACGCCGC GCCCAGACTG ACCCACGGGT CCAGCGTGCG CATGTAGCGG
 301 TCGTCGGGCA GCGATTCTGT GCCCGTCGTG GGATGGGCGG CCTCGCGCTT
 351 GATCGGGATG TGAGTGTGTT CTGGCACGTA GAACGTTGTG AAGCCATGGT
 401 CGTCGGCGAG TTTGGCCGCG GCCGCCGGG CGATGCCCCG ATCACTGGTG
 451 AAAAGCACGA GCCCGTAATC CATGCACAGA ATTAGAACGT GTTCTACCTC
 501 TGTGGAGCAA GCGGCCCCCG CTACGTCGAC CCGCAGACGG GCCGCTGAGA

Figure 3-continued

551 CGATCGCTCC TGGTCGCGCC TAGGGGCCGG TCGCTCCCGC GCACCCGCTC
 601 GAACGTGCGC TAGCGTGGTT GATCGGTGCG GCGTAACGCA AACGCGGGCA
 701 AGCAGTGACG TCGCGCCCGA CGAGGTCTTG AAGGCACTGG AAGCAACA

M. szulgai U3-U9 Length: 712 (SEQ ID NO 64)

1 GTGCGGCGGC GCCCGGCCGG GACGCCGTGA TCAGCGAGCT CGTCGGTATT
 51 CCAGCCGAAG CCGACGCCGA GGCTGACCCG GCTGCCGGAC AGATGATCCA
 101 GCGTGGAAT GCTTTTGGCC AGCGTGATCG GATCATGCTC GACCGGCAGC
 151 GCCACCGCGG TGGACAACCG GACCCGAGAC GTCACCGCGG CCGCAGACCC
 201 CAAACTCACC CACGGGTCCA GCGTGCGCAT GTAGCGGTCA TCGGGCAGCG
 251 ACGCGTCACT CGTAGTGGGA TGGGCAGCCT CCCGCTTGAT CGGGATGTGG
 301 GTGTGTTTCA GCACGTAGAA CGTCTGAAAA CCGTGGTTCGT CGGCCAGCTT
 351 TGCGGCCGCC GCCGGGGCAA TGCCGCGATC GCTGGTGAAA AGTACAAGCC
 401 CGTAATCCAT GCACCGAATT AGAACGTGTT CTACCTGCGA TGAGCAAGCG
 451 GCCCGGTCGG CCGACGAGCA GGTGCGCCCG GCGCGACCAG CAGAACGTGC
 501 GCTAGCGTGG TTGATCGAGT CGCGCACCGG AAAGCAACCG GAAGTAATCA
 551 GGAGGAGCCA TGACCTACTC GACCGGCAGC CCCGATATC CGCCTGCGCA
 601 GCAGCCCGGG GGGTCGTACG GCGGCGCCAC TCCTGGTGAC GCTCAGAGCA
 651 AGCTTCCGCT GTACCTCAGC ATGGCGGTGG CCGCCCTCGG CCTGGCCGCG
 701 TATCTCGCCA GC

M. tuberculosis U2-U9 Length: 802 (SEQ ID NO 65)

1 TCATAGCAGG CCTCCTCTTG GGTCCACAAC GCCCGCATCG CCTCGAGGTA
 51 TTCGCGCAGC ATGGTGCGGC GGCGTCCGGG TGGCACACCA TGATCGACGA
 101 GCTCGTCGGT GTTCCAGCCG AACCCGACCC CGACGCTGAC CCGGCCGTGC
 151 GACAAATGAT CCAGCGTCGC AATGCTTTTC GCCAGCGTGA TCGGATCATG
 201 CTCGACCGGC AGCGCCACCG CGGTGGCAAG CCGGATCCGC GACGTCACCG

```

251 CCGATGCTGC TCCCAGGCTC ACCCACGGGT CCAACGTGCG CATATAGCGG
301 TCGTCCGGCA GCGAAGCGTC ACCCGTCGTC GGATGGGCCG CCTGGCGCTT
351 GACCGGGATG TGGGTGTGTT CGGGCACGTA AAACGTGCGA AACCCGTGGC
401 TTTCAGCAAG TCTGGCGGCC GCGGCCGGGG TGATGCCGCG GTCGCTGGTG
451 AACAGCACAA GTCCGTAGTG CATGCACCGA ATTAGAACGT GTTCCACCTG
501 CGCCGGGCAA GCGGCCGTCC AGTCGTTAAT GTCGCGAGCG CCGGTCGCTC
551 CGGCAGCGGC ACCCGAACGT GCGCTAGCGT GGTTGATCGA ATCGCGTCGC
601 CGGGAGCACA GCGTCGCACT GCACCACTGG AGGAGCCATG ACCTACTCGC
651 CGGGTAACCC CGGATACCCG CAAGCGCAGC CCGCAGGCTC CTACGGAGGC
701 GTCACACCCT CGTTCGCCCA CGCCGATGAG GGTGCGAGCA AGCTACCGAT
751 GTACCTGAAC ATCGCGGTGG CAGTGCTCGG CCTGGCTGCG TACTTCGCCA
801 GC

```

Figure 3-continued

M. bovis U2-U1 Length: 628 (SEQ ID NO 66)

In this sequence, there is a mutation (as underlined) compared with the sequence of *M. tuberculosis*.

```

1 TCATAGCAGG CCTCCTCTTG GGTCCACAAC GCCC GCATCG CCTCGAGGTA
51 TTCGCGCAGC ATGGTGCGGC GCGTCCGGG TGGCACACCA TGATCGACGA
101 GCTCGTCGGT GTTCCAGCCG AACCCGACCC CGACGCTGAC CCGGCCGTGC
151 GACAAATGAT CCAGCGTCGC AATGCTTTTC GCCAGCGTGA TCGGATCATG
201 CTCGACCGGC AGCGCCACCG CCGTGGCAAG CCGGATCCGC GACGTCACCG
251 CCGATGCTGC TCCCAGGCTC ACCCACGGGT CCAACGTGCG CATATAGCGG
301 TCGTCCGGCA GCGAAGCGTC ACCCGCGTC GGATGGGCCG CCTGGCGCTT
351 GACCGGGATG TGGGTGTGTT CGGGCACGTA AAACGTGCGA AACCCGTGGC
401 TTTCAGCAAG TCTGGCGGCC GCGGCCGGGG TGATGCCGCG GTCGCTGGTG
451 AACAGCACAA GTCCGTAGTG CATGCACCGA ATTAGAACGT GTTCCACCTG
501 CGCCGGGCAA GCGGCCGTCC AGTCGTTAAT GTCGCGAGCG CCGGTCGCTC
551 CGGCAGCGGC ACCCGAACGT GCGCTAGCGT GGTTGATCGA ATCGCGTCGC
601 CGGGAGCACA GCGTCGCACT GCACCACT

```

M. xenopi U4-U9 Length: 400 (SEQ ID NO 67)

```

1 GTTACCCAC CGCGAGCAAG CGGCGCCGGT AGAAGCTGCG ATGACACGCC
51 AGTCGCCGCG AGACCCCGC CGCCAGGTGC GCTAGCGTGG ATGGTCGAAT
101 CGCGTCGCAA CGCCTGCCCT GACAAGTCAC GGCGTTAATG GAGCGGTCCA
151 CGCAGCGTCG CGCGGAAGCG GCGCCCTGGG GATACAGCGT CGCAACACAG

```

10074246-021402

```

201  TGGCGCCCCA  ACGGCACTGA  TGCACAGGAG  AAGCCATGAC  GTACTCGCCC
251  GGTAGCCCCG  GATATCCACC  CGCGCAGTCC  CCCGGTTCCT  ACGGCGGCTC
301  CCCACAGTCG  TTCGCCAAAT  CCGATGACGG  CGCCAGCAAG  CTGCAGCTGT
351  ATCTGACCGT  CGCGGTGGTG  GCGCTCGGCC  TGGCGGCCTA  CCTGGCGAGT

```

M. paratuberculosis U2-U1 Length: 707 (SEQ ID NO 68)

Underlined, the mutated nucleotidic base which allows to differentiate *M. Avium* from *M. Paratuberculosis*.

```

1   TCGTAGCTGG  CTTCTCTCGTC  GGTCCACAGC  GCCCGCATCG  CTTCAGGTA
51  TTCGCGCAGC  ATGGTGCGGC  GCCGGCCCGC  CGGCACGCCG  TGGTCGGCGA
101 GTTCGTCGGT  GTTCAGCCCG  AACCCGACGC  CGAGGCTGAC  CCGGCCGCCG
151 GACAGATGGT  CAAGGGTGGC  AATACTTTTC  GCCAGCGTGA  TCGGGTCGTG

```

Figure 3-continued

```

201  TTCGACCGGC  AGGGCCACCG  CGGTGGACAG  CCGCACCCGC  GAGGTGACGG
251  CACAGGCCCG  GCCAGACTG  ACCCAGGGT  CCAGGGTGCG  CATGTAGCGG
301  TCGTCGGGCA  GCGACGCGTC  GCCGGTGGTC  GGGTGCGCGG  CCTCCCCTT
351  GATCGGGATA  TCGTGTGTT  CCGGCACGTA  GAAGGTCGCA  AACCCGTGGT
401  CGTCGGCAAG  CTTGCGGGCC  GCAGCCGGAG  AGATGCCACG  GTCGCTGGTG
451  AAAAGCACAA  GCCCGTAATC  CATGCAGTGA  ATTAGAACGT  GTTCTACCTC
501  TCGGGGGCAA  GCTGTCGTGA  TACGGACCGT  CTCGCCGCGC  GGTGCTCTGC
551  GAAGCCCGCG  GGCAAGCCAA  TGGCGACGGC  ACCGGCCGTC  GCACGTGCGC
601  TAGCGTGGGT  GATCGACCGT  GTCGCTCGCG  CAGTGACGCG  CCTGCAAGCA
651  CCGCGTCGCA  TCGCAACCGT  GCGCCCCGCT  CGGCACTAAA  AGGCAGTGGA
701  AGCAACA

```

M. marinum U2-U1 Length: 686 (SEQ ID NO 69)

This sequence is based on the sequence analysis of 6 different strains

```

1   TCGTAGGCGG  CTTCTCTCTG  CGTCCACAGT  CGCCCGCATC  GCCTCGAGGT
51  ATTCACGCAA  CATCGTGCGG  CGCCGTCCGG  GTGGAACGCC  ATGGTCGGCG
101 AGTTCGTCGG  TGTTCCAACC  GAACCCACG  CCGAGGCTGA  CCCGTCCGCC
151 GGACAGATGA  TCCAGCGTGG  CAATGCTCTT  GGCCAGGGTG  ATCGGGTCAT
201 GCTCGACGGG  CAGCGCCACC  GCAGTCGACA  GCCGTACCCG  CGAGGTCAAC
251 GCCGATGCCG  CGCCCAAAC  CACCCAGGGG  TCCAGCGTGC  GCATATAACG

```

20420: 942404


```

301 ATCGTCGGGA AGCGAGGAAT CGCCCGTCGT TGGATGAGCG GCTTCTCGCT
351 TGATTGGGAT ATGGGTGTGC TCAGGCACGT AGAAGGTGTG AAAGCCGTGG
401 TCGTCAGCGA GTCTCGCCGC CGCCGCCGGA GCGATGCCGC GGTCGCTGGT
451 GAAAAGCACA AGCCCATAGT CCATAACAGA ATTAGAACGT GTTCTACCTC
501 GGCCGGGCAA GCGCCCCCGG CGCCAATCGG CTCGGCGGGA TCGACGGAGG
551 TGATGGCGCT GGTGAGCGG GGGCAGGTCG CCGCGGCGCG AGCACCGGAA
601 CGTGCGCTAG CGTGGTTGTT CGAATCGCGT CGCAGGGACC AAGCGTCGCA
651 ATGCAGCAGC GCGCCGCGA CGGCGCGCAA GTAACA

```

M. ulcerans U2-U1 Length: 685 (SEQ ID NO 70)

13 different strains have been sequenced.

These strains from Zaire, Mexico, Surinam, Japan, Benin, Australia, Togo show a strong identity but disclose point mutations. There is therefore a certain degree of variations within an otherwise conserved sequence.

Primers are identical to those of *M. marinum* (both strains are indeed highly similar). The bases which are underlined are mutated nucleotidic bases but the base shown here is the most frequent among the sequenced species

```

1 TCGTAGGCGG CTTCCTCCTG CGTCCACAGC GCCCGCATCG CCTCGAGGTA
51 TTCACGCAAC ATCGTGCGGC GCCGTCCGGG TGGAACGCCA TGGTCGGCGA

```

Figure 3-continued

```

101 GTTCGTCGGT GTTCCAACCG AACCCACGC CGAGGCTGAC CCGTCCGCCG
151 GACAGATGAT CCAGCGTGGC AATGCTCTTG GCCAGGGTGA TCGGGTCATG
201 CTCGACGGGC AGCGCCACCG CAGTCGACAG CCGTACCCGC GAGGTCACCG
251 CCGATGCCGC GCCCAAACTC ACCCAGGGGT CCAGCGTGCG CATATAACGA
301 TCGTCGGGAA GCGAGGAATC GCCCGTCGTT GGATGAGCGG CTTCTCGCTT
351 GATTGGGATA TGGGTGTGCT CAGGCACATA GAAGGTGTGA AAGCCGTGGT
401 CGTCAGCGAG TCTCGCCCC GCCCGCGGAG CGATGCCGCG GTCGCTGGTG
451 AAAAGCACAA GCCCATAGTC CATAACAGAA TTAGAACGTG TTCTACCTCG
501 GCCGGGCAAG CGCCCCCGC GCCCAATCGGC TTGGCGGGAT CGACGGAGGT
551 GATGGCGCTG GTCGAGCGGG GGCAGGTCGC CGCGGCGCGA GCACCGGAAC
601 GTGCGCTAGC GTGGTTGTTC GAATCGCGTC GCAGGGACCA AGCGTCGCAA
651 TGCAGCAGCG GCGCCGCGAC GGCGCGCAAG TAACA

```

M. leprae U2-U1 Length: 729 (SEQ ID NO 71)

```

1 TCATATAACG GCTTCATTCT TGTGTCCATA ATGCCTGCAT TGCTTCGAGG
51 CATTCTGACA CCATGGTGCG GCGCCGCCCG GATGGCACAT CGTGATCGGT
101 GAGCTCGTTG GTCTTCCAAC CGAACCCGAC GCCGAAGTTC ACTCACTCGC
151 CGGACAAATT ATCCAGGTTG ACAATACTTT TCGCAAGTGT GATTGGGTCA

```

10074246-021402

201 TGTTAGACGG GCAGCGCCAC CACCATGAAC AGTCGTAGCC TGCCGATATA
 251 ACCCGCATGT CGCGCCCAAA CTTACCCATG AGTCATAGGT ACGCATCGCA
 301 TATAGCTGTC GTCACTGGAC AGTGATACTC ATCCGTAACC AGGTAGTGGG
 351 GTCTGAGTGG CAATGGCATA TGGGTGTGTT CGGGCACATA GAACTTGCGG
 401 AAGCCGTGGC TCTCCGCAAG CTTGACTGCT GCCGCGGGG TGATGCCGCG
 451 GTCGTTGGTT AAAAGCGCAA TCCCGTAGCC CATACCAAGA ATTTAGAGCG
 501 TGTTCCACCT GCGACGGCCA AGCGGTCGTG CCGACGATTT CGGCGTCCAT
 551 CGGTGGTAGG CGAGCTGACA CGCAGGTCGT GCCGGCGCGG TCGCCCTAAC
 601 GTGCGCTAGC GTTGATGATC GAATGCGCCG CAACGTAAGC GCTGCCAATT
 651 TGGGCGTTTA TCCAACGGTG CGCATGGGAG CACAGCGTTG CACTGCAGCA
 701 GTGGCGCCGT GACGGCACTG GAAATAACA

M. nonchromogenicum U4-U1 Length: 129 (SEQ ID NO 72)

1 GTTCCTGTTC GGCGGGCAAC GGGGGGTCC TTGTCGCGCA GTGTTGACCC
 51 ACCGACTCGG CCCGCAAGTG CGCTAGCGTG GATGGTCGAA GCGCGCCGCA
 101 CCGCCACCA GCGCCCTGCC ACAAGCACA

M. scrofulaceum U4-U1 Length: 219 (SEQ ID NO 73)

1 GTTCTACCTC CGGTGAGCAA GCTGCCGCCG CGGCGGCACG GATCGGCGTC
 51 CAAGCCGGTC GCGACGGCAC GCCCGTCCCG AAGTGCCTA GCGTGGTTGA
 101 TCGATCGCGT CGCAACGCAA CCGCCGGGCA CGGCATTCGT GGAACGGCGC

Figure 3-continued

151 GCCCGCACGC ACAGCGCCGC GACGCAACTG TGGCGCCCGC AAAGGCACTT
 201 CACGGCACTG GAAGCAACA

M. triplex U4-U1 Length: 116 (SEQ ID NO 74)

1 GTTCTACCTT GGTCGGCAAG CGGCGCGGGA ACGGCCCCGG CACCGGCTCC
 51 CCGACGTGCG CTAGCGTGGT TGTTGGAATC GCGTCGCAAC GCAAGCGCGG
 101 CGAGCCTGGA AAAACA

M. Paratuberculosis F57 sequence

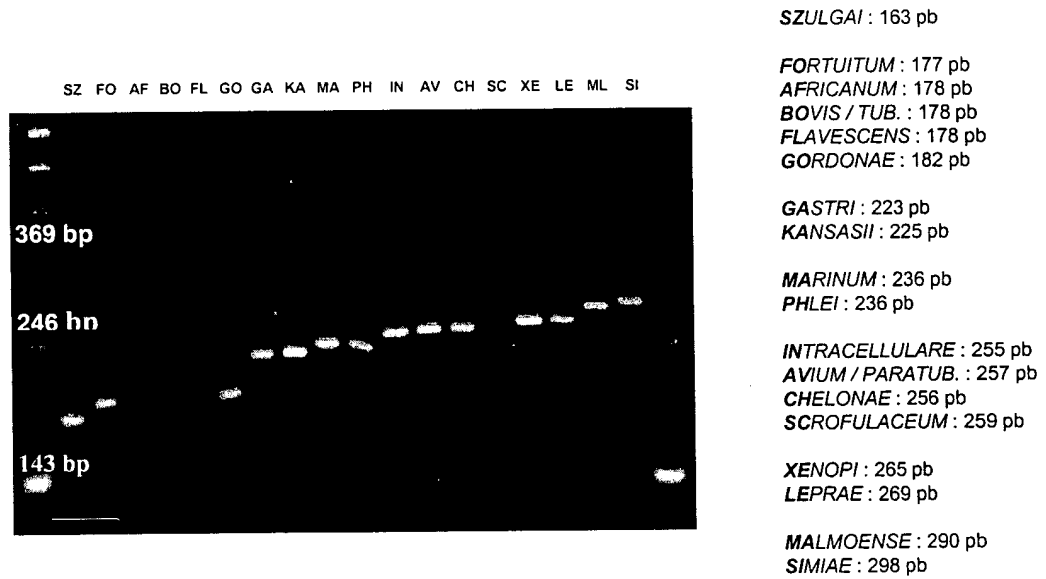
M. paratuberculosis F57b - MPT1 Length: 618 (SEQ ID NO 75)

1 GATCTCAGAC AGTGGCAGGT GCGGCTCCG AAGCTGGCGT CAGCTATTGG
 51 TGTACCGAAT GTTGTGTGCA CCGAGCCGGT CCCAGGTGTG TTCGAGTTGC
 101 AGCTGAGAAT TGTCGATCCG CTTAGTTCGC CGCTTGAATG GTCGTCTGTG

151 CCAGCCGCCC ACTCGTGGTC TCTGAGTTTG GGTATCGATG AAATGGGCGT
201 CTACCAGTCG CTCCCGTTGG CGAACGTATC GGGCGTTGTA GTGGGAGGCG
251 TACCAGGGTC GGGGAAAACC GCGTGGCTGA CGAGTGCTCT GGGGTCGTTC
301 GGTGCGTCAG CGGCGGTCCA GTTCGCTGTC ATCGACGGGA AGGGTGGTCA
351 GGACTTGGAA TGCCTGCGTG CTCGTAGCTG CCGATTCATG AATGACGATC
401 TGGAGCTGCC TGAGATTGCA GCGATTCTGA ATGACGCGAC CGGTCTAGTC
451 CGTGATCGAA TTAGACAGGG CAACAACATA TTCGGATCGT CCAACTTTTG
501 GGATCGCGGC CCGACGCCGC AGGTTCCGCT GGTGTTCTGT GTGATTGACG
601 GCTATCGGGG CCGAGATC

10074243 : 021402

Figure 4. U1-U4 consensus amplification of *us-p34* regions of different mycobacterial species



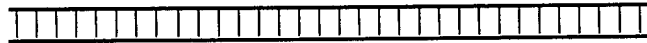
10074346:02442

Figure 5. Specific and non specific hybridization

Homologous hybridization between both 178-bp amplicons from *M. tuberculosis*

M. tuberculosis: 178 pb

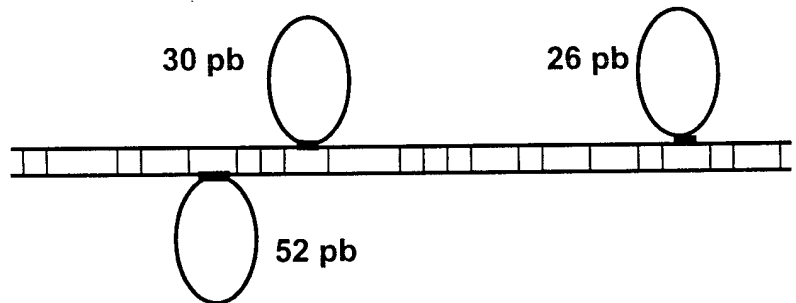
M. tuberculosis: 178 pb



Deletion within each of both single strands hampers hybridization between the 182-bp amplicon from *M. gordonae* and the 178-bp amplicon from *M. tuberculosis*

M. gordonae: 182 pb

M. tuberculosis: 178 pb



Schematic representation of a deletion

40074246 . 031403

a) Unlabeled amplified DNA segments specific for various mycobacteria species were first transferred on nylon membrane (*M. tuberculosis* (TB), *M. avium* (AV), *M. szulgai* (SZ), *M. kansasii* (KA), *M. xenopi* (XE), *M. simiae* (SI) and *M. malmoense* (ML)).

b) Digoxigenin-labeled amplicons from *M. tuberculosis* (TB*), *M. avium* (AV*), *M. szulgai* (SZ*), *M. kansasii* (KA*), *M. xenopi* (XE*) and *M. simiae* (SI*) were hybridized on the nylon membrane. Specific differential hybridization is obtained.

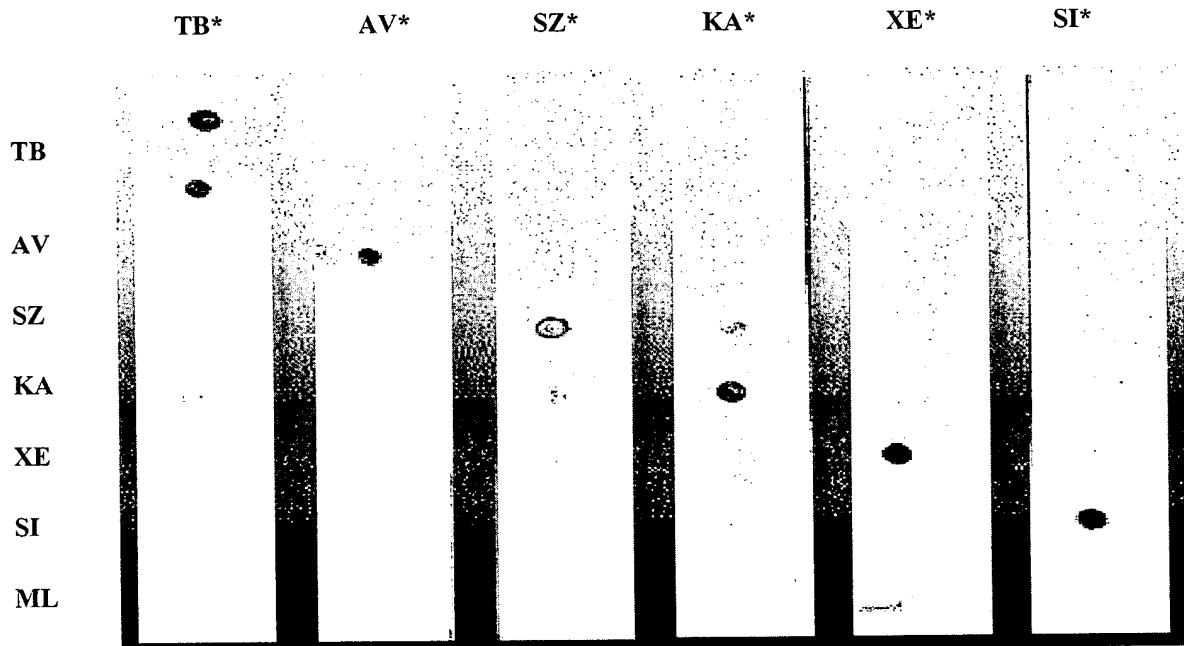
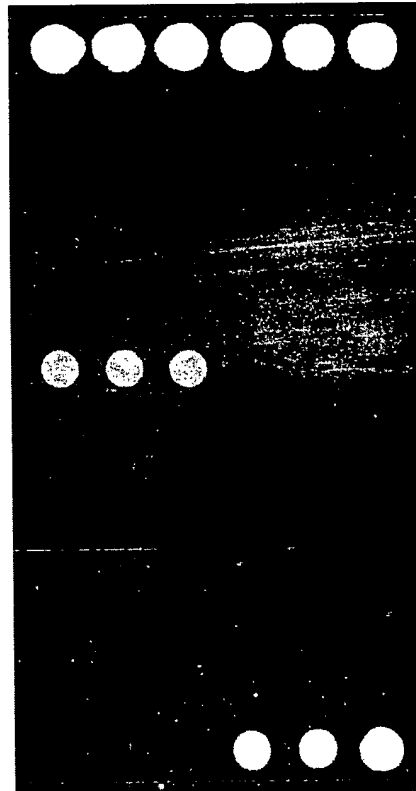


Figure 7. Example of biochips detecting specifically *M. gordonae*.

Control of fixation



Control of hybridization

2004-06-04 14:00

Figure 8. Alignment of several Mycobacterial us-p34 sequences.

Parameters used for sequence alignment:

gap creation penalty = 5; gap extension penalty = 1

```

1                                     50
{mycAV21} tcgtag.ctg gcttcctcgt cgggccacag .cgc-cg-at c-cttcagg
{mycPT2Z} tcgtag.ctg gcttcctcgt cgggccacag .cgc-cg-at c-cttcagg
{mycML2Z} tcgtag.gcc gcttcctcct ggggccacag .cgc-cg-at t-cctcgatg
{mycSI2Z} tcgtat.tgg gcttcctcct gcgtccacag .cgc-cg-at g-cttcagg
{mycTB21} tcatag.cag gcctcctcctt ggggccaca. acgc-cg-at c-cctcgagg
{mycBO2Z} tcatag.cag gcctcctcctt ggggccaca. acgc-cg-at c-cctcgagg
{mycMA2Z} tcgtag.gcg gcttcctcct gcgtccacag tcgc-cg-at c-cctcgagg
{mycUL2Z} tcgtag.gcg gcttcctcct gcgtccacag .cgc-cg-at c-cctcgagg
{mycGA3Z} gtg..... -gc-gg c-ccccggcg
{mycKA31} gtg..... -gc-gg c-c.....
{mycGO31} gtg..... -ga-ga c-g.....
{mycSZ31} gtg..... -gg-gg c-c.....
{mycLE2Z} tcatataacg gcttcattct tgtgtccata atgc-tg-at t-cttcgagg
Consensus -----C-C--G-----

51                                     100
{mycAV21} tattcgcgca gcatggtgcg gcgccggc-c -ccg-c--gc cg--g--ggc
{mycPT2Z} tattcgcgca gcatggtgcg gcgccggc-c -ccg-c--gc cg--g--ggc
{mycML2Z} tattcacgca gcatggtgcg acggcgcc-g -ccg-c--gc cg--g--ggc
{mycSI2Z} tactcgcgca gcatggtgcg ccggcgcg-c -gcg-c--gt tg--g--ggc
{mycTB21} tattcgcgca gcatggtgcg gcggcgtc-g -gtg-c--ac ca--a--gac
{mycBO2Z} tattcgcgca gcatggtgcg gcggcgtc-g -gtg-c--ac ca--a--gac
{mycMA2Z} tattcacgca acatcggtgcg gcggcgtc-g -gtg-a--gc ca--g--ggc
{mycUL2Z} tattcacgca acatcggtgcg gcggcgtc-g -gtg-a--gc ca--g--ggc
{mycGA3Z} gcacgccatg gtcggcgagt tcgtgcgc-c -gcg-c--gc ca--g--ggc
{mycKA31} .....g-c -gcg-c--gc ca--g--agc
{mycGO31} .....c-g -cca-c--gt ta--g--ggc
{mycSZ31} .....c-g -ccg-g--gc cg--a--agc
{mycLE2Z} cattcgtaga ccattggtgcg gcgccggc-g -atg-c--at cg--a--ggt
Consensus -----C- G---G-AC-- --TG-TC---

101                                     150
{mycAV21} g--t---c- --g----g- -g--c--g-- g--g-ggc-g --c-ggccgc
{mycPT2Z} g--t---c- --g----g- -g--c--g-- g--g-ggc-g --c-ggccgc
{mycML2Z} g--c---c- --g----g- -a--c--a-- g--g-ggc-g --c-ggccgc
{mycSI2Z} c--t---c- --g----a- -g--c--g-- g--c-cac-g --c-gtccgc
{mycTB21} g--c---c- --g----g- -g--c--g-- c--g-cgc-g --c-ggccgt
{mycBO2Z} g--c---c- --g----g- -g--c--g-- c--g-cgc-g --c-ggccgt
{mycMA2Z} g--t---c- --g----a- -g--c--c-- g--g-ggc-g --c-gtccgc
{mycUL2Z} g--t---c- --g----a- -g--c--c-- g--g-ggc-g --c-gtccgc
{mycGA3Z} g--t---c- --g----g- -g--t--g-- g--g-cgc-g --c-ggcccc
{mycKA31} g--t---c- --g----g- -g--t--g-- g--g-cgc-g --c-ggcccc
{mycGO31} g--c---c- --g----g- -g--c--g-- g--g-ggc-a --t-ggccgc
{mycSZ31} g--c---c- --a----g- -g--g--g-- g--g-ggc-g --c-ggctgc
{mycLE2Z} g--c---t- --c----a- -g--c--g-- g--g-agt-c --t-actcgc

```

20074246-02402

Figure 8- continued

| | 201 | | | 250 |
|-----------|------------|------------|------------|-----------------------|
| {mycAV21} | --t-cg--cg | ---gg--c-- | cg-gg-ggac | -gc-gc-cc- .-cgaggtg- |
| {mycPT2Z} | --t-cg--cg | ---gg--c-- | cg-gg-ggac | -gc-gc-cc- .-cgaggtg- |
| {mycML2Z} | --c-cg--gg | ---gc--c-- | cg-gg-agac | -gc-gc-cc- .-cgacgtc- |
| {mycSI2Z} | --c-cg--gg | ---gc--g-- | cg-gg-ggac | -gt-gc-cc- .-cgaggtg- |
| {mycTB21} | --c-cg--cg | ---gc--c-- | cg-gg-ggca | -gc-gg-tc- .-cgacgtc- |
| {mycBO2Z} | --c-cg--cg | ---gc--c-- | cg-gg-ggca | -gc-gg-tc- .-cgacgtc- |
| {mycMA2Z} | --c-cg--gg | ---gc--c-- | cg-ag-cgac | -gc-gt-cc- .-cgaggtc- |
| {mycUL2Z} | --c-cg--gg | ---gc--c-- | cg-ag-cgac | -gc-gt-cc- .-cgaggtc- |
| {mycGA3Z} | --c-cc--c. | ---gc--a-- | cg-gg-tgac | -gc-tg-ct- .-ggaggtg- |
| {mycKA31} | --c-cg--cg | ---ac--a-- | cg-tg-tgac | -gt-gg-cc- .-gaaggtg- |
| {mycGO31} | --c-cg--cg | ---ac--g-- | tg-cg-cgac | -gc-gc-cc- .-cgacgtc- |
| {mycSZ31} | --c-cg--cg | ---gc--c-- | cg-gg-ggac | -ac-gg-cc- .-agacgtc- |
| {mycLE2Z} | --t-ag--gg | ---gc--c-- | ca-ca-gaac | -gt-gt-gc- t-ccgatat- |
| Consensus | TG-T--AC-- | GCA--GC-AC | --C--T---- | A--C--A--C -G-----A |

| | | | | | | |
|-----------|------------|-----------|-----------|------------|----------|-----|
| | 251 | | | | | 300 |
| {mycAV21} | cgg-acag-c | c--g---ga | --g----c- | gg--cagg-- |g--- | |
| {mycPT2Z} | cgg-acag-c | c--g---ga | --g----c- | gg--cagg-- |g--- | |
| {mycML2Z} | cgg-gcac-c | c--g---gg | --c----c- | gg--tagc-- |g--- | |
| {mycSI2Z} | ccg-gcac-c | c--g---ga | --g----c- | gg--cagc-- |g--- | |
| {mycTB21} | ccg-cgat-c | t--t---gg | --c----c- | gg--caac-- |g--- | |
| {mycBO2Z} | ccg-cgat-c | t--t---gg | --c----c- | gg--caac-- |g--- | |
| {mycMA2Z} | ccg-cgat-c | c--g---aa | --c----g- | gg--cagc-- |g--- | |
| {mycUL2Z} | ccg-cgat-c | c--g---aa | --c----g- | gg--cagc-- |g--- | |
| {mycGA3Z} | ccg-tgaa-c | c--a---ag | --c----c- | gg--cagg-- |g--- | |
| {mycKA31} | ccg-tgaa-c | c--g---aa | --c----c- | gg--cagc-- |g--- | |
| {mycGO31} | cag-acac-c | c--g---gg | --c----g- | ga--cagg-- |g--- | |

```

{mycSZ31} ccg-ggcc-c a--a----aa --c-----c- gg--cagc-- .....g----
{mycLE2Z} acc-gcat-t c--g----aa --t-----t- ag--atag-- acgcat----
Consensus ---C----G- -GC-CCCA-- CT-ACCCA-G --TC----GT -----CGCA

```

Figure 8- continued

```

301
{mycAV21} -g--g-gg-- g--gggc.-g c-a.cgcgt- gccg-tggtc g-g-gcgcg-
{mycPT2Z} -g--g-gg-- g--gggc.-g c-a.cgcgt- gccg-tggtc g-g-gcgcg-
{mycML2Z} -a--g-gg-- g--cggca-g c-a.cgcgc- accc-tcgtc g-a-gggcc-
{mycSI2Z} -g--g-gg-- g--gggc.-g c-a.ttcgt- gccg-tcgtg g-a-gggcc-
{mycTB21} -a--g-gg-- g--cggc.-g c-a.agcgt- accc-tcgtc g-a-gggcc-
{mycBO2Z} -a--g-gg-- g--cggc.-g c-a.agcgt- accc-ccgtc g-a-gggcc-
{mycMA2Z} -a--a-ga-- g--ggga.-g c-a.ggaat- gccg-tcgtt g-a-gagcg-
{mycUL2Z} -a--a-ga-- g--ggga.-g c-a.ggaat- gccg-tcgtt g-a-gagcg-
{mycGA3Z} -a--g-gg-- g--cggc.-g c-a.cgcgt- accc-tcgtg g-a-gggcg-
{mycKA31} -a--g-gg-- g--cggc.-g c-a.cgcgt- accc-tcgtg g-a-.ggcg-
{mycGO31} -a--a-gg-- g--gggc.-g c-t.ctcgt- tccg-tggtg g-a-gagcc-
{mycSZ31} -g--g-gg-- a--gggc.-g c-a.cgcgt- actc-tagtg g-a-gggca-
{mycLE2Z} -a--g-tg-- g--actgg-c a-tgatact- atcc-taacc a-g-agtgg-
Consensus T-TA-C--TC -TC-----A- -G-----C ----G----- -G-T-----G

```

```

351
{mycAV21} cctccc-ctt g-tc--g--a --c-----t- -c--c--g-- g-agg-cgca
{mycPT2Z} cctccc-ctt g-tc--g--a --c-----t- -c--c--g-- g-agg-cgca
{mycML2Z} cctcgc-ctt g-cc--g--a --g-----t- -c--c--g-- g-acg-ctgg
{mycSI2Z} cctcgc-ctt g-tc--g--g --a-----t- -t--c--g-- g-acg-tgtg
{mycTB21} cctggc-ctt g-cc--g--g --g-----t- -g--c--g-- a-acg-gcga
{mycBO2Z} cctggc-ctt g-cc--g--g --g-----t- -g--c--g-- a-acg-gcga
{mycMA2Z} cttctc-ctt g-tt--g--a --g-----c- -a--c--g-- g-agg-gtga
{mycUL2Z} cttctc-ctt g-tt--g--a --g-----c- -a--c--a-- g-agg-gtga
{mycGA3Z} cttccc-ttt g-cc--g--a --c-----t- -g--c--g-- g-gag-gcga
{mycKA31} cctccc-ttt g-cc--g--g --c-----t- -g--c--g-- g-aag-gcga
{mycGO31} cctcgc-ttt g-tc--g--a --c-----t- -g--t--g-- g-agg-gtga
{mycSZ31} cctccc-ctt g-tc--g--g --g-----t- -a--c--g-- g-acg-ctga
{mycLE2Z} gtctga-tgg c-at--c--a --g-----t- -g--c--a-- g-act-gcgg
Consensus -----G--- -A--GG-AT- TG-GTGTG-T C-GG-AC-TA -A---T-----

```

```

401
{mycAV21} --c--g--gt cg--g--a-- ct-cg-g--c --a--c--a- ag--g--a--
{mycPT2Z} --c--g--gt cg--g--a-- ct-cg-g--c --a--c--a- ag--g--a--
{mycML2Z} --g--g--gt cg--g--a-- tt-gg-g--t --c--c--g- ag--g--g--
{mycSI2Z} --g--a--gt cg--g--g-- tt-gg-c--g --c--c--g- cg--g--c--
{mycTB21} --c--g--gc tt--a--a-- tc-gg-g--c --g--c--g- tg--g--g--
{mycBO2Z} --c--g--gc tt--a--a-- tc-gg-g--c --g--c--g- tg--g--g--
{mycMA2Z} --g--g--gt cg--a--g-- tc-cg-c--c --c--c--a- cg--g--g--

```

10074946 = 021402

```

{mycUL2Z} --g--g--gt cg--a--g-- tc-cg-c--c --c--c--a- cg--g--g--
{mycGA3Z} --g--a--gt cg--g--c-- tt-cg-g--t --c--c--g- ag--c--a--
{mycKA31} --g--a--gt cg--g--c-- tt-cg-g--t --c--g--a- aa--g--a--
{mycGO31} --a--a--tg tg--g--a-- tt-cg-t--t --c--a--g- aa--a--g--
{mycSZ31} --a--g--gt cg--g--c-- ct-tg-g--c --c--c--g- ca--g--g--
{mycLE2Z} --g--g--gc tc--c--a-- ct-ga-t--t --c--g--g- tg--g--g--
Consensus AA-CC-TG-- --TC-GC-AG --T--C-GC- GC-GC-GG-G --AT-CC-CG

```

Figure 8- continued

```

451
{mycAV21} g--gc---g --a--ca-a- gc-cg--atc ---gcagtg- a.-----a--
{mycPT2Z} g--gc---g --a--ca-a- gc-cg--atc ---gcagtg- a.-----a--
{mycML2Z} g--gc---g --a--ta-a- gc-cg--atc ---ggacag- a.-----a--
{mycSI2Z} a--ac---g --a--ca-g- gc-cg--atc ---gcacag- a.-----a--
{mycTB21} g--gc---g --c--ca-a- gt-cg--gtg ---gcaccg- a.-----a--
{mycBO2Z} g--gc---g --c--ca-a- gt-cg--gtg ---gcaccg- a.-----a--
{mycMA2Z} g--gc---g --a--ca-a- gc-ca--gtc ---.aacag- a.-----a--
{mycUL2Z} g--gc---g --a--ca-a- gc-ca--gtc ---.aacag- a.-----a--
{mycGA3Z} g--gc---g --a--ga-a- gc-cg--atc ---gaacag- a.-----a--
{mycKA31} g--gc---g --a--ga-a- gc-cg--atc ---gaacag- a.-----a--
{mycGO31} a--gc---g --c--aa-g- gg-tg--gtc ---gcccc- t.-----a--
{mycSZ31} a--gc---g --a--ta-a- gc-cg--atc ---gcaccg- a.-----a--
{mycLE2Z} g--gt---t --a--cg-a- tc-cg--gcc ---accaag- at-----g--
Consensus -TC--TGGT- AA-AG--C-A --C--TA--- CAT-----A --TTAGA-CG

```

```

501
{mycAV21} -----t--ct ct-cggggca agctgtcgtg atacggaccg tctcgcgcg
{mycPT2Z} -----t--ct ct-cggggca agctgtcgtg atacggaccg tctcgcgcg
{mycML2Z} -----t--cg gc-gtgggca agcgcgtcg cgcgcgagga tctcgactcg
{mycSI2Z} -----t--ct ct-tggagca agcggcccc gctacgtcga cccgcagacg
{mycTB21} -----c--ct gc-cggggca agcggcc... ..
{mycBO2Z} -----c--ct gc-cggggca agcggcc... ..
{mycMA2Z} -----t--ct cg-cggggca agcggcccc ggcgcaatcg gctcggcggg
{mycUL2Z} -----t--ct cg-cggggca agcggcccc ggcgcaatcg gcttggcggg
{mycGA3Z} -----t--ct cc-cggggca agcgggtcat ctgccga... tcggcagcgg
{mycKA31} -----t--ct ca-cggggca agcgggtcat ccgccgatcg tcggcagtg
{mycGO31} -----t--tt tt-gccg... ..ca
{mycSZ31} -----t--.. ct-cgat... ..ga
{mycLE2Z} -----c--ct gc-acggcca agcgggtcgtg ccgacgattt cggcggtcc...
Consensus TGTTC-AC-- --G-----

```

```

551
{mycAV21} ..... .cggtcgtct ccgaagccc cgggcaagcc aa-ggcgacg
{mycPT2Z} ..... .cggtcgtct gcgaagccc cgggcaagcc aa-ggcgacg

```

10074246-021402

```

{mycML2Z} gaccacacaac actggtcggc gccggggcgc cgcacaggtc gg-cggcccg
{mycSI2Z} ggccgctgag ac.gatcgt cctggtcgcg cctaggggcc gg-cgctccc
{mycTB21} ..... .gtccag tcgttaatgt cgcgagcgcc gg-cgctccg
{mycBO2Z} ..... .gtccag tcgttaatgt cgcgagcgcc gg-cgctccg
{mycMA2Z} atc....gac ggaggtgatg gcgctggtcg agcgggggca gg-cgcccgcg
{mycUL2Z} atc....gac ggaggtgatg gcgctggtcg agcgggggca gg-cgcccgcg
{mycGA3Z} ..... .tgccggg gccggtatcg cgggcggcaa gg-cgccacg
{mycKA31} ..... .tgacggg gccggtatca cggg.ggcaa gg-cgccacg
{mycGO31} ..... .gccgacc ccctgcggcg acgggcacta gt-gtcagag
{mycSZ31} ..... .gcaagcg gcccggtcgg ccgacgagca gg-cggcccg
{mycLE2Z} ..... .atcggg ggtaggcgag ctgacacgca gg-cgtgccg
Consensus -----T-----

```

Figure 8- continued

```

601
{mycAV21} -caccggccg tcgcac-tg- -cta---g- gtgat--acc gtgtcgc...
{mycPT2Z} -caccggccg tcgcac-tg- -cta---g- gtgat--acc gtgtcgc...
{mycML2Z} -cacggggcg ccgaac-tg- -cta---g- gtgat--atc gcgtcgcaac
{mycSI2Z} -cgcacccgc tcgaac-tg- -cta---g- ttgat--gtc gcg.cgtaac
{mycTB21} -cagcggcac ccgaac-tg- -cta---g- ttgat--a.. .....
{mycBO2Z} -cagcggcac ccgaac-tg- -cta---g- ttgat--a.. .....
{mycMA2Z} -cgcgagcac cggaac-tg- -cta---g- ttggt--a.. .....
{mycUL2Z} -cgcgagcac cggaac-tg- -cta---g- ttggt--a.. .....
{mycGA3Z} -cgtgagtac ccggcc-tg- -cta---g- gtcac--a.. .....
{mycKA31} -cgcgagtac caggcc-tg- -cta---g- gtcac--a.. .....
{mycGO31} -tgcgctagc ttggtt-at- -aat---c- caggc--t.. .....
{mycSZ31} -cgcgaccag cagaac-tg- -cta---g- ttgat--a.. .....
{mycLE2Z} -cgcggtcgc cctaac-tg- -cta---t- atgat--aat gcgcccgaac
Consensus G-----G--C G---GCGT-G -----CG---

```

```

651
{mycAV21} ..... .tcgcgc agtgacgcgc ctgcaagcac
{mycPT2Z} ..... .tcgcgc agtgacgcgc ctgcaagcac
{mycML2Z} gcaagatctc gaaggtgtt tcaaaggcgg cgcg....c ctggaagtgc
{mycSI2Z} gcaaacgcgg gcacgccctg gcgtcaccga cgggcgagcc ctgcagacac
{mycTB21} ..... .atcgcgtcg ccgggagcac
{mycBO2Z} ..... .atcgcgtcg ccgggagcac
{mycMA2Z} ..... .atcgcgtcg cagggacca.
{mycUL2Z} ..... .atcgcgtcg cagggacca.
{mycGA3Z} ..... .at
{mycKA31} ..... .at
{mycGO31} ..... .ac
{mycSZ31} ..... .gt
{mycLE2Z} gtaagcgtg cca.atttg gcgtttatcc aacggtgcgc atgggagcac
Consensus -----

```

10074446-021402

| | | | |
|-----------|------------|------------|----------------------------------|
| | 701 | | 750 |
| {mycAV21} | c-cgtcgcat | cgcaac.... | .cgtggcgcc cgctcggcac taaaaggcag |
| {mycPT2Z} | c-cgtcgcat | cgcaac.... | .cgtggcgcc cgctcggcac taaaaggcag |
| {mycML2Z} | a-cgtcgcg | cgcaaatg | cgctcg... ..tgagggtc ttgaaggcac |
| {mycSI2Z} | g-cgtcgcac | tgcagcagtg | acgtcgcgcc cgacgaggtc ttgaaggcac |
| {mycTB21} | a-cgtcgcac | tgcaccag.. | |
| {mycBO2Z} | a-cgtcgcac | tgcaccag.. | |
| {mycMA2Z} | a-cgtcgcaa | tgcagcagcg | gcgccgcgac ggccgc..... |
| {mycUL2Z} | a-cgtcgcaa | tgcagcagcg | gcgccgcgac ggccgc..... |
| {mycGA3Z} | t-tgtcgtag | ggagcaatcg | tcgcattgca gcaggcg.ta ggcacggcac |
| {mycKA31} | c-tgtcgtag | ggagcaatcg | tcgcattgca gcaggcg.ta ggcacggcac |
| {mycGO31} | c-cgtcgtag | cgaagcagag | gggccgtgac ggcaccg... .. |
| {mycSZ31} | c-c..... | gcaccggaaa | gcaaccg... .. |
| {mycLE2Z} | a-cgttcgac | tgcagcagtg | gcgccgtgacggcac |
| Consensus | -G----- | ----- | ----- |

Figure 8- continued

| | | | |
|-----------|-------------|------------|---------------|
| | 751 | | 782 |
| {mycAV21} | tggaagcaac | a-----gcc | -----t -t |
| {mycPT2Z} | tggaagcaac | a-----gcc | -----t -. |
| {mycML2Z} | tggaagcaat | a-----gcc | -----t -. |
| {mycSI2Z} | tggaagcaac | a-----gcc | -----t -. |
| {mycTB21} | | t-----gcc | -----t -g |
| {mycBO2Z} | | t-----gcc | -----t -. |
| {mycMA2Z} | .gcaagtaac | a-----gcc | -----t -. |
| {mycUL2Z} | .gcaagtaac | a-----gcc | -----t -. |
| {mycGA3Z} | cggaggtaac | a-----gcc | -----t -. |
| {mycKA31} | tggaaggtaac | a-----gcc | -----t -. |
| {mycGO31} | .gaagcaa.c | a-----ctt | -----c -g |
| {mycSZ31} | .gaagtaatc | a-----gcc | -----t -g |
| {mycLE2Z} | tggaataaac | a-----gcc | -----t -. |
| Consensus | ----- | -GGAGGA--- | ATGACCTAC- C- |

2044242004

Figure 9. Alignment of three Mycobacterial us-p34 sequences (M. tuberculosis, M. avium and M. intracellulare).

Parameters used for sequence alignment :
gap creation penalty = 5 ; gap extension penalty = 1

```

1                                     60
{mycTB21} tcatagcagg cctcctcttg ggtccacaac gcccgcacg cctcgaggta ttcgcgcagc
{mycAV21} tcgtagctgg cttcctcgtc ggtccacagc gcccgcacg cttccaggta ttcgcgcagc
{mycIN4Z} .....
Consensus -----

61                                     120
{mycTB21} atggtgcggc ggcgtccggg tggcacacca tgatcgacga gctcgtcggg gttccagccg
{mycAV21} atggtgcggc gccggcccg cggcacgccg tggtcggcga gttcgtcggg gttccagccg
{mycIN4Z} .....
Consensus -----

121                                    180
{mycTB21} aaccgcagcc cgacgctgac ccggccgtgc gacaaatgat ccagcgtcgc aatgcttttc
{mycAV21} aaccgcagcg cgaggctgac ccggcccgcg gacagatggg caagggtggc aatacttttc
{mycIN4Z} .....
Consensus -----

181                                    240
{mycTB21} gccagcgtga tcggatcatg ctcgaccggc agcgccaccg cggtaggcaag ccggatccgc
{mycAV21} gccagcgtga tcgggtcgtg ttcgaccggc agggccaccg cggtaggacag ccgcaaccgc
{mycIN4Z} .....
Consensus -----

241                                    300
{mycTB21} gacgtcaccg ccgatgctgc tcccaggctc acccacgggt ccaacgtgcg catatagcgg
{mycAV21} gaggtgacgg cacaggcccg gccagactg acccacgggt ccagggtgcg catgtagcgg
{mycIN4Z} .....
Consensus -----

301                                    360
{mycTB21} tcgtccggca gcgaagcgtc acccgtcgtc ggatggggcg cctggcgctt gaccgggata
{mycAV21} tcgtcgggca gcgacgcgtc gccgggtggt ggtgcgcgcg cctcccgctt gatcgggata
{mycIN4Z} .....
Consensus -----

361                                    420
{mycTB21} tgggtgtgtt cgggcacgta aaacgtgcga aaccgtggc tttagcaag tctggcggcc
{mycAV21} tgctgtgtt cgggcacgta gaaggtgcga aaccgtggg cgtcggcaag cttcgcggcc
{mycIN4Z} .....
Consensus -----

421                                    480
{mycTB21} gcggccgggg tgatgccgcy gtcgctgggt aacagcacia gtccgtagt catgcaccga
{mycAV21} gcagccggag agatgccacg gtcgctgggt aaaagcacia gcccgtaatc catgcagtga
{mycIN4Z} .....
Consensus -----

481                                    540
{mycTB21} attagaacgt ----c----g c--c-g---- -ggcc--cc agtc-ttaa- g-----
{mycAV21} attagaacgt ----t----c t--g-g---- -tgtc--ga tacg-accg- c----cgcgc
{mycIN4Z} ..... t--t-a---- -tccg--ga tacc-accg- c----cggag
Consensus ----- GTTC-ACCT- -GC-G-GCAA GC----GT-- ----G----T -TCGC-----

```

```

{mycTB21} ..... .gagc-c-gg -c--tc--g- -g--cacc- -a-----
{mycAV21} ggtcgtctcc gaagcccgcg ggcaa-c-aa -g--ga--g- -c---ccgt- -c-----
{mycIN4Z} ggccgcccggg ggccctcgccg cccaa-a-ag -g--gg--c- -c---ttcc- -c-----
Consensus -----G-C-- T-GC--CG-C A-CGG----C G-ACGTGCGC

```

```

601
{mycTB21} -----t- ----- .aa-cg--tc g-c-gg---- -a-----
{mycAV21} -----g- -----accgt gtcgctcgcg cag-ga--cg c-t-ca---- -c-----
{mycIN4Z} -----g- -----accgc gtcgc.aatg cgg-ga--cg c-t-ca---- -a-----
Consensus TAGCGTGG-T GATCG----- ---T--CG-- -C-G--AGCA C-GCGTCGCA
660

```

```

661
{mycTB21} ct--ac-a-t .....
{mycAV21} tc--aa-c-t ggcgcccgt cggcactaaa aggcagtgga agcaaca---
{mycIN4Z} tc--ca-c-c ggcgcccgt cggcacttaa aggcactggt agcaaca---
Consensus --GC--C-G- -----GGA GGAGCCATGA
720

```

```

721
{mycTB21} -----g
{mycAV21} -----t
{mycIN4Z} -----
Consensus CCTACTC-

```

2024-07-20 09:44:02

Figure 10. Alignment of several pairs of Mycobacterial us-p34 sequences.

Parameters used for sequence alignment

gap creation penalty = 50 ; gap extension penalty = 3

M. Tuberculosis x M. Xenopi

Percent Similarity: 45.749 Percent Identity: 45.749

```

351 GACCGGGATGTGGGTGTGTTTCGGGCACGTAAAACGTGCGAAACCCGTGGC 400
      | | | | |
1 .....GTTTACCCACC 11
401 TTTCAGCAAGTCTGGCGGCCGCGCCGGGTGATGCCGCGGTTCGCTGGTG 450
      | | | | | | | | | | | | | | | | |
12 GCGAGCAAGCGGCGCCGGTAGAAGCTGCGATGACACGCCAGTCGCCGCGA 61
451 AACAGCACAAGTCCGTAGTGCATGCACCGAATTAGAACGTGTTCCACCTG 500
      | | | | | | | | | | | | | | | | |
62 GACCCCCGCCGCCAGGTGCGCTAGCGTGGATGGTTCGAATCGCGTCGCAAC 111
501 CGCCGGGCAAGCGGCCGTCCAGTCGTTAATGTCGCGAGCGCCGGTCGCTC 550
      | | | | | | | | | | | | | | | | |
112 GCCTGCCCTGAC..AAGTCACGGCGTTAATGGAGCGGTCCACGCAGCGTC 159
551 CGGCAGCGGCACCCGAACGTGCGCTAGCGTGGTTGATCGAATCGCGTCGC 600
      | | | | | | | | | | | | | | | | |
160 GCGCGGAAGC.....GGCGCCCTGGGGATACAGCGTCGCAACAC 198
601 CGGGAGCACAGCGTCGCACTGCACCAAGTGGAGGAGCCATGACCTACTCG 649
      | | | | | | | | | | | | | | | | |
199 AGTGGCGCCCCAACGGCACTGATGCACAGGAGAAGCCATGACGTACTCG 247

```

M. Tuberculosis x M. Gordonae

Percent Similarity: 69.795 Percent Identity: 69.795

```

51 TTCGCGCAGCATGGTGCGGCGGCGTCCGGGTGGCACACCATGATCGACGA 100
      | | | | | | | | | | | | | | | | |
1 .....GTGCGACGACGGCCGGCCAGCACGTTATGGTCGGCGA 37
101 GCTCGTCGGTGTTCAGCCGAACCCGACCCCGACGCTGACCCGGCCGTGC 150
      | | | | | | | | | | | | | | | | |
38 GCTCGTCGGTGTTCAGCCGAACCCGACCCGAGGCTAACTCGCCCGCCG 87
151 GACAAATGATCCAGCGTCGCAATGCTTTTCGCCAGCGTGATCGGATCATG 200
      | | | | | | | | | | | | | | | | |
88 GACAGGTGATCCAGCGTGGCGATGCTTTTCGCCAAGGTGATCGGGTCATG 137

```


201 CTCGACCGGCAGCGCCACCGCGGTGGCAAGCCGGATCCGCGACGTCACCG 250
 |||||
 138 CTCGACCGGCAACGCGACTGCCGTCGACAGCCGCACCCGCGACGTCACAG 187

Figure 10-continued

251 CCGATGCTGCTCCCAGGCTCACCCACGGGTCCAACGTGCGCATATAGCGG 300
 |||||
 188 CACACGCCGCGCCAGGCTCACCCAGGGATCCAGGGTGCATATAACGG 237
 301 TCGTCCGGCAGCGAAGCGTCAACCGTCGTCGGATGGGCCCTGGCGCTT 350
 |||||
 238 TCGTCGGGCAGCGTCTCGTCTCCGGTGGTGGGATGAGCCGCTCGCGTTT 287
 351 GACCCGGGATGTGGGTGTGTTTCGGGCACGTAAAACGTGCGAAACCCGTGGC 400
 |||||
 288 GATCGGGATATGCGTGTGTTTCGGGTACGTAGAAGGTGTGAAACCATGTG 337
 401 TTTCAGCAAGTCTGGCGGCCGCGGCCGGGTGATGCCGCGGTGCGTGGTG 450
 |||||
 338 TGTCGGCAAGTTTCGCTGCTGCCGCAGGGGAAATACCGCGATCGCTGGTG 387
 451 AACAGCACAAGTCCGTAGTGCATGCACCGAATTAGAACGTGTTCCACCT. 499
 |||||
 388 AACAGAACGAGGCTGTAGTCCATGCCCAATTTAGAACGTGTTCTACTTT 437
 500 ..GCGCCGGGCAAGCGGCCGTCCAGTCGTTAATGTCGCGAGCGCCGGTGC 547
 |||||
 438 TGGCCGCAGCCGACCCCTGCGGCGACGGGCACTAGTTGTCAGAGGTGCG 487
 548 CTCCGGCAGCGGCACCCGAACGTGCGCTAGCGTGGTTGATCGAATCGCGT 597
 |||||
 488 CTAGCGTGGTTGATCGAATGCGTCGCGAGGCCGTACCGCGTCGTGCCGAAG 537
 598 CGCCGGGAGCACAGCGTCGCACTGCACCAAGTGGAGGAGCCATGACCTACT 647
 |||||
 538 CAGAGGGGCCGTGACGGCACCGGAAGCAACAGGAGGACTTATGACCTACC 587
 648 CG 649
 ||
 588 CG 589

M. Tuberculosis x M. Avium

Percent Similarity: 77.504 Percent Identity: 77.504

1 TCATAGCAGGCCTCCTCTTGGGTCCACAACGCCCCGATCGCCTCGAGGTA 50
 |||||
 1 TCGTAGCTGGCTTCCTCGTCGGTCCACAGCGCCCGCATCGCTTCAGGTA 50
 51 TTCGCGCAGCATGGTGCGGCGGCGTCCGGGTGGCACACCATGATCGACGA 100
 |||||
 51 TTCGCGCAGCATGGTGCGGCGGCGCCGCGGCGACGCCGTGGTTCGGCGA 100

10074246-021492

```

101 GCTCGTCGGTGTTCAGCCGAACCCGACCCGACGCTGACCCGGCCGTGC 150
    | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
101 GTTCGTCGGTGTTCAGCCGAACCCGACCCGAGGCTGACCCGGCCGCCG 150
    | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
151 GACAAATGATCCAGCGTCGCAATGCTTTTCGCCAGCGTGATCGGATCATG 200
    | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
151 GACAGATGGTCAAGGGTGGCAATACTTTTCGCCAGCGTGATCGGGTCGTG 200
    | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

```

Figure 10-continued

201 CTCGACCGGCAGCGCCACCGCGGTGGCAAGCCGGATCCGCGACGTACCG 250
 |||||
 201 TTCGACCGGCAGGGCCACCGCGGTGGACAGCCGACCCGCGAGGTGACGG 250
 251 CCGATGTGCTCCCAGGCTCACCCACGGGTCCAACGTGCGCATATAGCGG 300
 |||||
 251 CACAGGCCGCGCCCAGACTGACCCACGGGTCCAGGGTGC GCATGTAGCGG 300
 301 TCGTCCGGCAGCGAAGCGTCAACCGTTCGTGGGATGGGCGGCTGGCGCTT 350
 |||||
 301 TCGTCCGGCAGCGACGCGTCCCGGTGGTGGGTGCGCGGCTCCCGCTT 350
 351 GACCGGGATGTGGGTGTGTTCCGGGCACGTAAACGTGCGAAACCCGTGGC 400
 |||||
 351 GATCGGGATATGCGTGTGTTCCGGCACGTAGAAGGTGCGAAACCCGTGGT 400
 401 TTTCAGCAAGTCTGGCGGCCGCGGCCGGGTGATGCCGCGGTGCGTGGTG 450
 |||||
 401 CGTCGGCAAGCTTCGCGGCCGAGCCGGAGAGATGCCACGGTTCGTGGTG 450
 451 AACAGCACAAAGTCCGTAGTGCATGCACCGAATTAGAACGTGTTCCACCTG 500
 |||||
 451 AAAAGCACAAAGCCGTAATCCATGCAGTGAATTAGAACGTGTTCTACCTC 500
 501 CGCCGGGCAAGCGGCCGTCCAGTCGTTAATGTCGC..... 535
 |||||
 501 TGCGGGGCAAGCTGTCGTGATACGGACCGTCTCGCCGCGCGGTGCTCTCC 550
 536GAGCGCCGGTCGCTCCGGCAGCGGCACCCGAACGTGCGC 574
 |||||
 551 GAAGCCCGCGGGCAAGCCAATGGCGACGGACCGCCGTGCGACGTGCGC 600
 575 TAGCGTGGTTGATCG.....AATCGCGTCGCCGGGAGCA 608
 |||||
 601 TAGCGTGGGTGATCGACCGTGTGCTCGCGCAGTGACGCGCCTGCAAGCA 650
 609 CAGCGTCGCACTGCACCAAGTGGAGGAGCCATGACCTACTCG..... 649
 |||||
 651 CCGCGTCGCGATCGCAACCGTGGCGCCCGCTCGGCACTAAAGGCAGTGG 700

M. Tuberculosis x M. Intracellulare

Percent Similarity: 43.220 Percent Identity: 43.220

51 TTCGCGCAGCATGGTGC GGCGGCGTCCGGGTGGCACACCATGATCGACGA 100
 1GTTCTACCTGTGCTGAGC 18
 101 GCTCGTCGGTGTTCAGCCGAACCCGACCCGACGCTGACCCGGCCGTGC 150
 19 AAGCTCCGGTGATACCGACCGTCTCGCCGGAGGGCCGCCGGGGGCTCGC 68
 151 GACAAATGATCCAGCGTCGCAATGCTTTTCGCCAGCGTGATCGGATCATG 200
 69 CGCCCAAGACAGTGGCGGCGCCACCGGTTCCCGCACGTGCGC.TAGCGTG 117

Figure 10-continued

201 CTCGACCGGCAGCGCCACCGCGGTGGCAAGCCGGATCCGCGACGTACCG 250
 118 GGTGATCGACCGCG...TCGCAATGCGGTGACGCGCCTGCAAGCACAGCG 164
 251 CCGATGCTGCTCCCAGGCTCACCCACGGGTCCAACGTGCGCATATAGCGG 300
 165 TCGCATCGCCACCGCGGCGCCGCTCGGCACTTAAAGGCACTGGTAGCAA 214
 301 TCGTCCGGCAGCGAAGCGTCACCCGTCGTCGGATGGGCCGCTGGCGCTT 350
 215 CAGGAGGAGCCATGACCTACTC..... 236

M. Tuberculosis x M. Simiae

Percent Similarity: 75.655 Percent Identity: 75.655

1 TCATAGCAGGCCTCCTCTTGGGTCCACAACGCCCGCATCGCCTCGAGGTA 50
 1 TCGTATTGGGCTTCTTCTGCGTCCACAGCGCCCGCATGGCTTCCAGGTA 50
 51 TTCGCGCAGCATGGTGC GGCGGCGTCCGGGTGGCACACCATGATCGACGA 100
 51 CTCGCGCAGCATGGTCCGCCGGCGCGCCGGCGGCACGTTGTGGTCCGCCA 100
 101 GCTCGTCGGTGTTCAGCCGAACCCGACCCGACGCTGACCCGGCCGTGC 150
 101 GTTCGTCGGTGTTCGAACCGAACCCGACGCCCACTGACCCGTCCGCCG 150
 151 GACAAATGATCCAGCGTCGCAATGCTTTTCGCCAGCGTGATCGGATCATG 200
 151 GACAGATGGTCCAGGGTGGCGATGCTTTTCGCCAGCGTGATCGGGTCGTG 200
 201 CTCGACCGGCAGCGCCACCGCGGTGGCAAGCCGGATCCGCGACGTACCG 250
 201 CTCGACGGGCAGCGCGACCGCGGTGGACAGTCGCACCCGCGAGGTGACCG 250
 251 CCGATGCTGCTCCCAGGCTCACCCACGGGTCCAACGTGCGCATATAGCGG 300

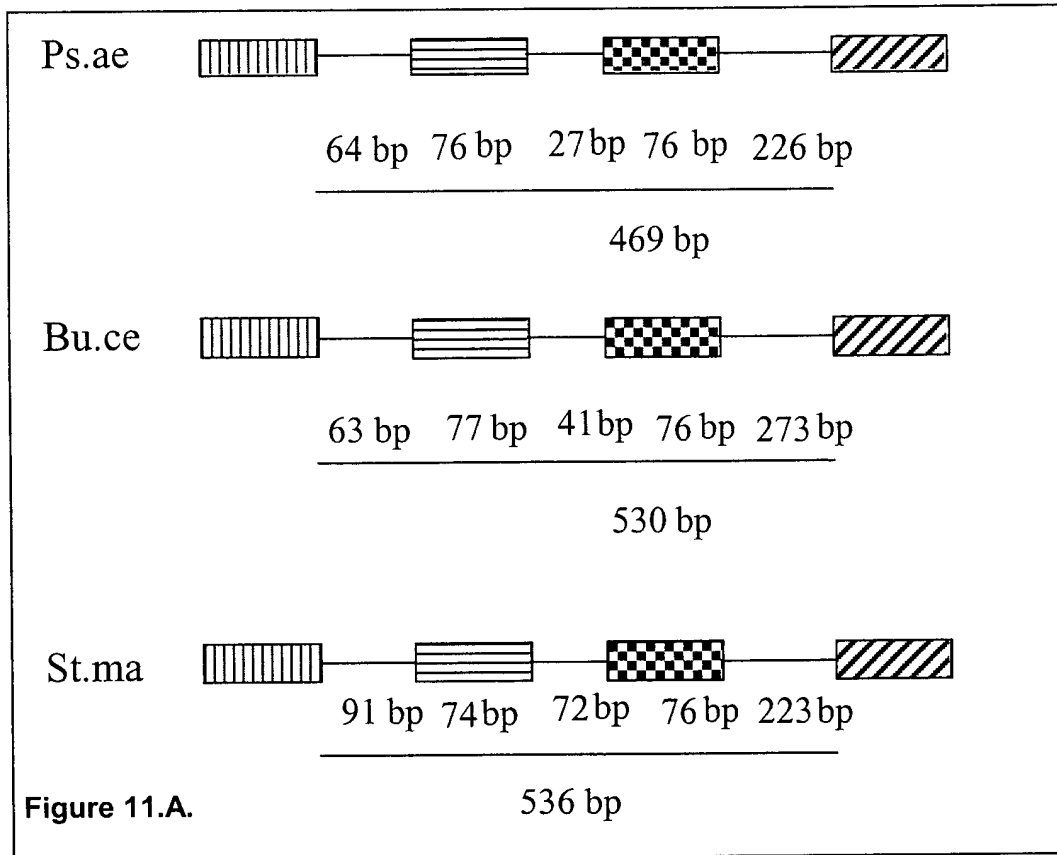
251 CGCACGCCGCGCCAGACTGACCCACGGGTCCAGCGTGCGCATGTAGCGG 300
 301 TCGTCCGGCAGCGAAGCGTCACCCGTCGTCGGATGGGCGCCTGGCGCTT 350
 301 TCGTCGGGCAGCGATTTCGTCGCCCGTCGTGGGATGGGCGCCTCGCGCTT 350
 351 GACCGGGATGTGGGTGTGTTTCGGGCACGTAAAACGTGCGAAACCCGTGGC 400
 351 GATCGGGATGTGAGTGTGTTCTGGCACGTAGAACGTTGTGAAGCCATGGT 400
 401 TTTCAGCAAGTCTGGCGGCCGCGCGGGGTGATGCCGCGGTTCGCTGGTG 450
 401 CGTCGGCGAGTTTGGCCGCGGCCGCGGGGCGATGCCCGATCACTGGTG 450
 451 AACAGCACAAGTCCGTAGTGCATGCACCGAATTAGAACGTGTTCCACCTG 500
 451 AAAAGCACGAGCCCGTAATCCATGCACAGAATTAGAACGTGTTCTACCTC 500

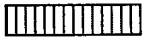
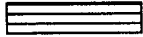


Figure 10-continued

501 CGCCGGGCAAGCGGCCGTCCAGTCGTTAATGTCGCGA..... 537
 501 TGTGGAGCAAGCGGCCCCCGCTACGTCGACCCGACAGCGGCGCTGAGA 550
 538GCGCCGGTCGCTCCGGCAGCGGCACCC 564
 551 CGATCGCTCCTGGTCGCGCCTAGGGGCCGGTCGCTCCCGCGCACCCGCTC 600
 565 GAACGTGCGCTAGCGTGGTTGATCGAATCGCGTCGCCGGGAGCACAGCGT 614
 601 GAACGTGCGCTAGCGTGGTTGATCGGTCGCGCGTAACGCAAACGCGGGCA 650
 615 CGCACTG....CACCAGTGGAGGAGCCATGACCTACTCG..... 649
 651 CGCCCTGGCGTCACCGACGGGCGAGCCCTGCAGACACGGCGTCGCACTGC 700

10074243:021402

Figure 11A. Organisation of the *rrn* operon of *Pseudomonas aeruginosa* (Ps. Ae), *Burkholderia cepacia* (Bu. ce) and *Stenotrophomonas maltophilia* (St. ma).



-  = RNA 16S (3' end)
-  = tRNA Isoleucine
-  = tRNA Alanine
-  = tRNA 23S (5' end)

16S

tRNA

tRNA-
ala

235

Figure 12. Discrimination by multiplex PCR.

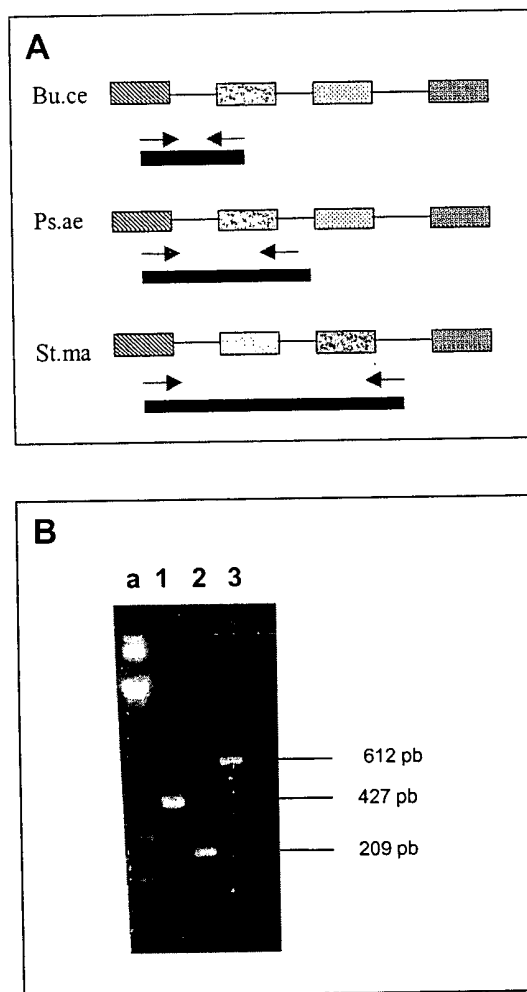
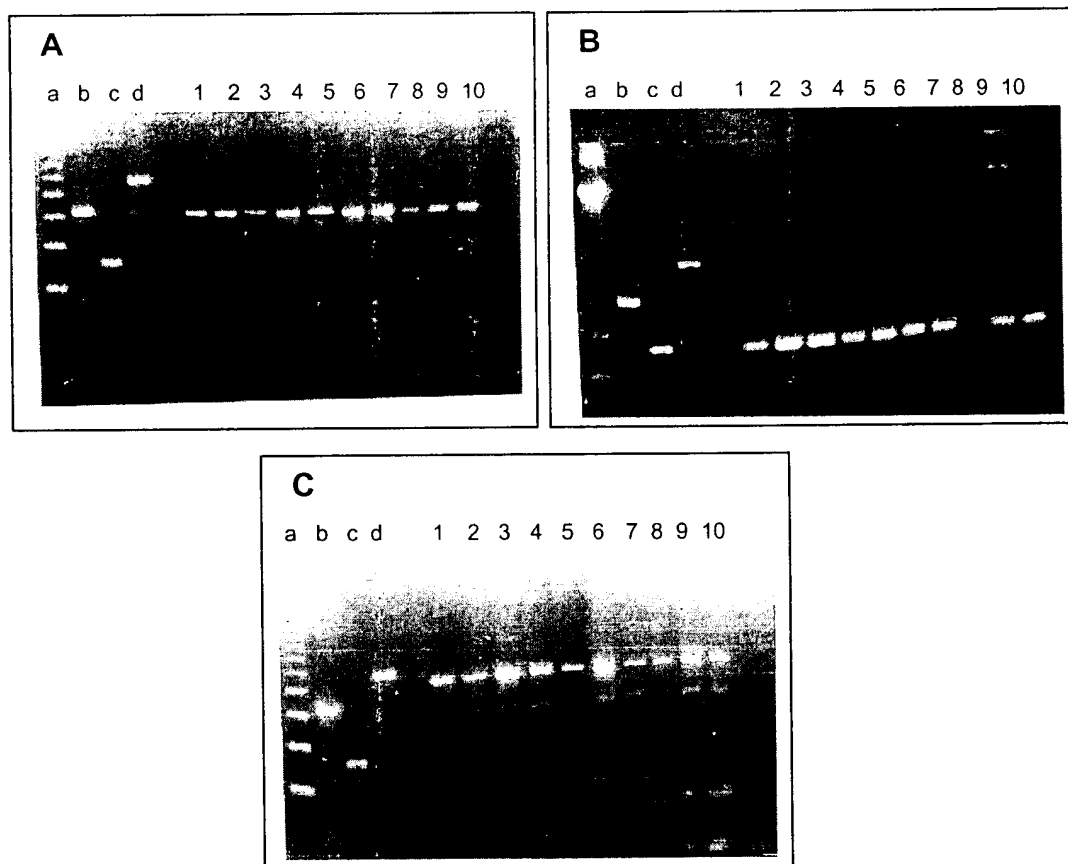
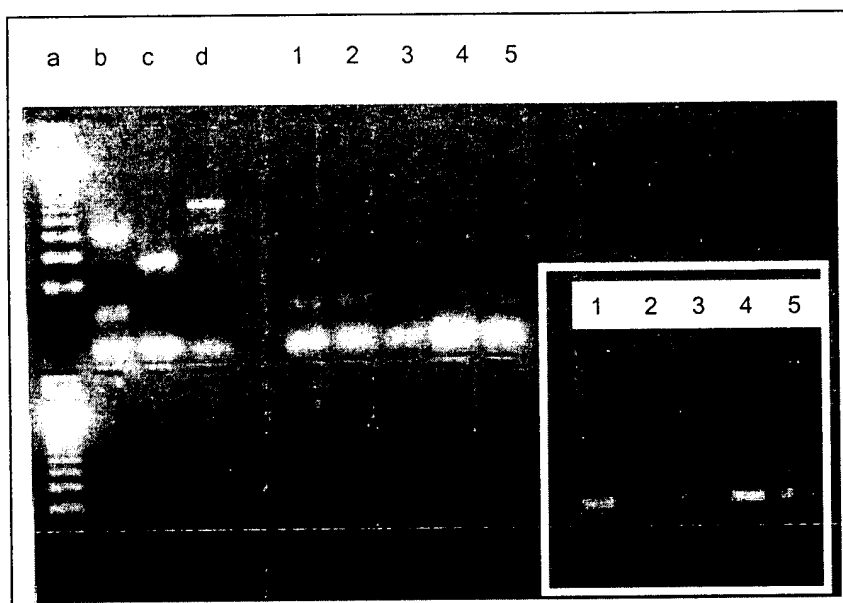


Figure 13. Multiplex PCR sensibility validation



2014-09-24 10:44:00

Figure 14. Multiplex PCR specificity validation



100744245-021402

Figure 15. Reverse hybridisation for the discrimination between *Ps. aeruginosa*, *Bu. cepacia* and *St. maltophilia*

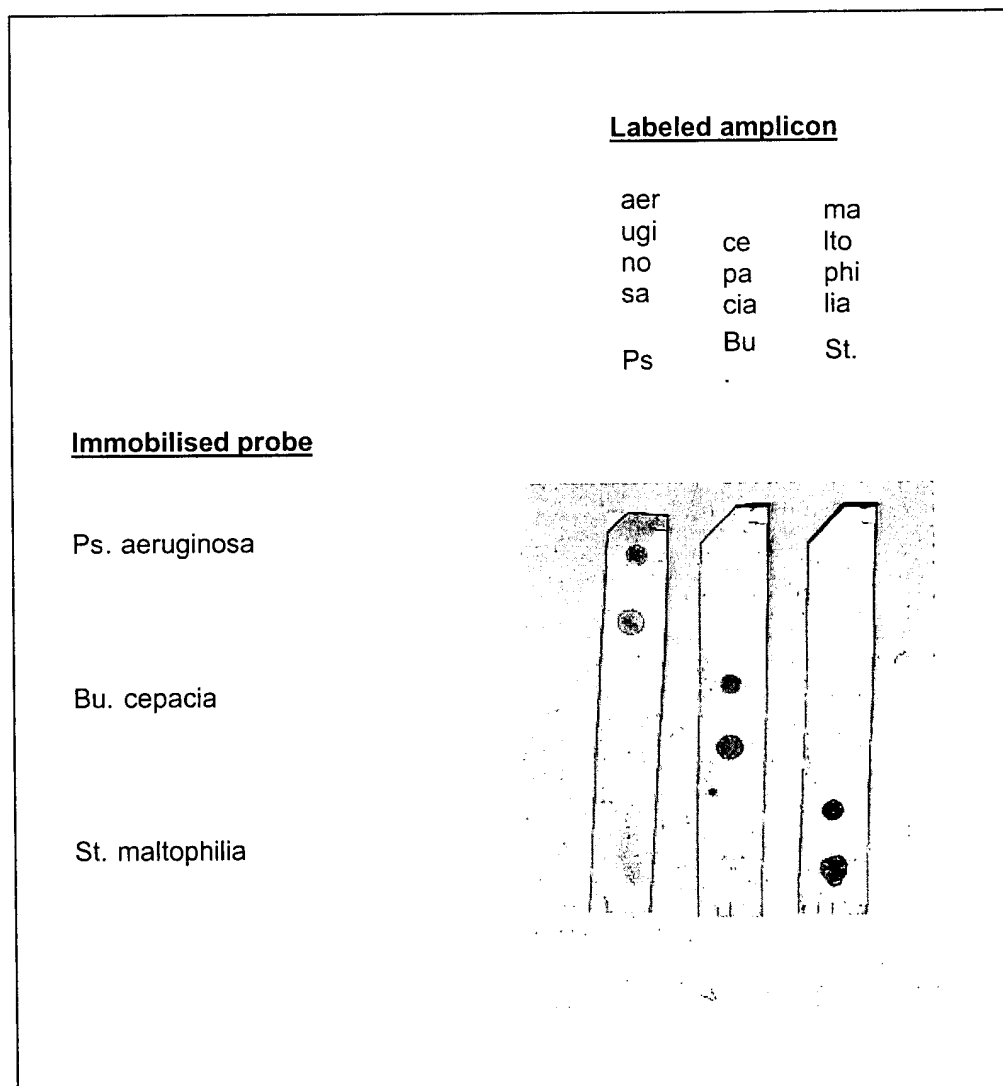
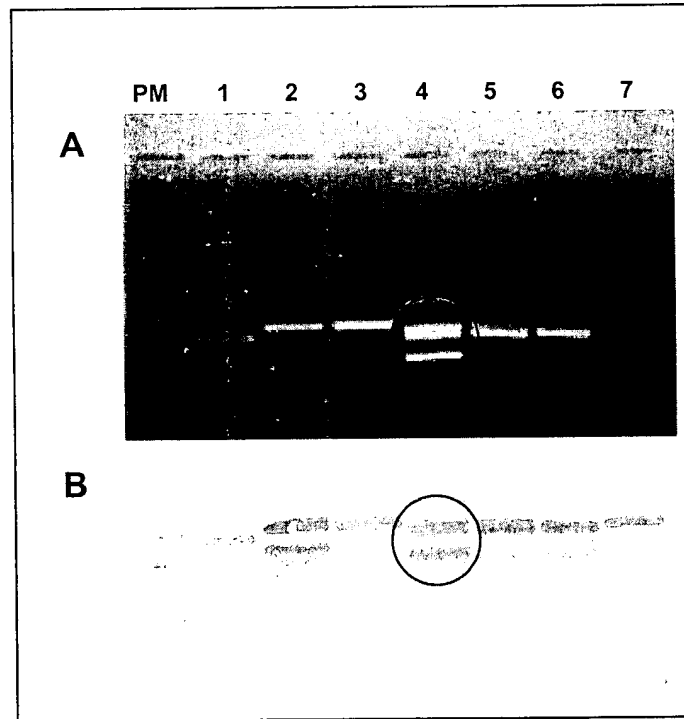


Figure 16. Visualization of the second *rrn* operon from *Ps. putida*



201720-9424001

Figure 17. Alignment of the two *rrn* operon sequences from *Ps. putida*. First (top) sequence is SEQ ID NO 78, second (bottom) sequence is SEQ ID NO 79.

```

5  GGGTTCCCCGAAGTAGCTAGTCTAACCTTCGGGAGGACGGTTACCACGGT 54
1  GGTTCACCAGAAGTAGCTAGTCTAACCTTCGGGAGGACGGTTACCACGGT 50
55  GTGATTCATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGGGAACCT 104
51  GTGATTCATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGGGAACCT 100
105  GCGGCTGGATCACCTCCTTAATCGACGACATCAGCCTGCTGATGAGCTCC 154
101  GCGGCTGGATCACCTCCTTAATCGACGACATCAGCCTGCTGATGAGCTCC 150
155  CACACGAATTGCTTGATTCATTGTCTGAAGACGATCAAGACCCCTATATCG 204
151  CACACGAATTGCTTGATTCATTGTCTGAAGACGATCAAGGCCTTGTGCAGG 200
205  TCTGTAGCTCAGTTGGTTAGAGCGCACCCCTGATAAGGGTGAGGTCCGCA 254
255  GTTCAAATCTGCCCAGACCTACCAATATGCGGGGCCATAGCTCAGCTGGG 304
305  AGAGCGCCTGCCTTGCACGCAGGAGGTCAGCGGTCGATCCCGCTTGGCT 354
355  CCACCACTCGCTTTACTTGATCAGAACTTAGAAATGAACATTCGTTGATG 404
201  CCTCGCGTTGTTCTTGATCAGAACTTGGAATGAGCATTGCTTCG 246
405  AATGTTGATTTCTGACTTTTGTCTGATCGTTCTTTAAAAATTTCGGATATG 454
247  AATGTTGATTTCTGGCTTTTGTCTGATCGTTCTTTAAAAATTTCGGATATG 296
455  TGATAGAAATAGACTGAACACCAGTTTCACTGCTGGTGGATCAGGCTAAG 504
297  TGATAGAAATAGACTGAACACCAGTTTCACTGCTGGTGGATCAGGCTAAG 346
505  GTAAAATTTGTGAGTTCTGCTCGAAAGAGCAACGTGCGAATTTTCGGCGA 554
347  GTAAAATTTGTGAGTTCTGCTCGAAAGAGCAACGTGCGAATTTTCGGCGA 396
555  ATGTCGTCTTCACAGTATAACCAGATTGCTTGGGGTTATATGGTCAAGTG 604
397  ATGTCGTCTTCACAGTATAACCAGATTGCTTGGGGTTATATGGTCAAGTG 446

```

20420 - 9424001

Figure 18. Alignment and consensus sequence between *Pseudomonas aeruginosa* (ps.msf{padfc}), *Burkholderia cepacia* (ps.msf{pcdfg}) and *Stenotrophomonas maltophilia* (ps.msf{xmdfa}).

| | | | |
|----|---------------|---|------------|
| 5 | | 1 | 60 |
| | ps.msf{padfc} | ----- gg---gct-- -----ta-c- --tc-----g caa--g--a- | |
| | ps.msf{pcdfg} | ----- gg---tta-- -----tg-c- --tc-----g caa--a--a- | |
| | ps.msf{xmdfa} | ----- tt---gca-- -----ca-g- --ct-----t tcg--a--g- | |
| 10 | Consensus | <u>GCCCGTCACA CCATGGGAGT</u> --GTT--CC AGAAG--G-T AG--TAACC- ---GG-GG-C | |
| | | 61 | 120 |
| | ps.msf{padfc} | -g-tac---- -agtgattc- ----- | ---gg----c |
| | ps.msf{pcdfg} | -g-cac---- -taggattc- ----- | ---tc---g |
| 15 | ps.msf{xmdfa} | -c-t.g---- -t.gctgcg- ----- | ---tc---g |
| | Consensus | G-T--CACG G-----A TGAAGTGGGT GAAGTCGTAA CAAGGTAGCC GTA--GGAA- | |
| | | 121 | 180 |
| | ps.msf{padfc} | c----- -aatc...a gatct-ag-t t-ttcataa- -tccca-a-g | |
| 20 | ps.msf{pcdfg} | g----- -tcca...g cttct-.g. a-aagttga- -gctca-g-t | |
| | ps.msf{xmdfa} | g----- -ttga-ca-a gacag-at-g t-ctgtcgg- -gtctt-a-a | |
| | Consensus | -TGCGGCTGG ATCACCTCCT T----G--A- -----C--C- -C-----G C-----C-C- | |
| | | 181 | 240 |
| 25 | ps.msf{padfc} | a-t.tg--tg -ttcactggt t..ag--gat tg--t-tg-a gctc---tggt --aga-cg-a | |
| | ps.msf{pcdfg} | t-tcgg-- <u>gt</u> <u>-aattaaaga</u> <u>c..ag--tca</u> <u>gg</u> --t-tg-a gctc---cgg --aga-ca-c | |
| | ps.msf{xmdfa} | a-gtac--gc -ttcagagaa tcaca--ggc ca--c-ga-g tgag---ccc --ttg-gc-t | |
| | Consensus | -A---CT- A----- ----AC-- -GG-C--T- ---AGT--- TT--G--C- | |
| | | 241 | 300 |
| 30 | ps.msf{padfc} | cccc-g-taa --.t-a-gt- ggcag--cg- -t-tgcccag ac-caccaat ...t-ttg-t | |
| | ps.msf{pcdfg} | gtct-g-taa --cg-g-gt- gttgg--cg- -t-caaccag ac-caccatt gtct-gcg-t | |
| | ps.msf{xmdfa} | tagc-c-gct --ga-a-ca- ctgct--gc- -g-aggggtc gt-ggttcga tccc-aca- | |
| | Consensus | ----T-A-- GG--G-G--C -----TT--A A-C----- -C----- ----G--G- | |
| 35 | | 301 | 360 |
| | ps.msf{padfc} | gtgctg-g-- atccga.... -...g-g c-a-ag-tc- -ct-gga-ag -gc-tgct-t | |
| | ps.msf{pcdfg} | aacaca-c-- aggc aaatct g---atgg-g g-a-ag-tc- -ct-gga-ag -ac-tgct-t | |
| | ps.msf{xmdfa} | ctccac-a-- ttcgagctgt a--cgaa-t c-c-tt-ga- .a-ccc-ca -at-catg-g | |
| 40 | Consensus | -----C-TG ----- -TAC---G- -C-T--C--A G--G--G-- C--C---T- | |
| | | 361 | 420 |
| | ps.msf{padfc} | gc-cgcagga ggtcaggag- ---atc-tcc t-gg---cac c.a- <u>ctaaaa</u> <u>....aa....</u> | |
| 45 | ps.msf{pcdfg} | gc-agcagg. ggtcgtcgg- ---atc-cgt c-gc---cac caa-caccaa -gctaagggc | |
| | ps.msf{xmdfa} | ct-ctttttg aaaaagcct- ---ggg-tg. .-ag---agg tgg-tagacg -accctgata | |
| | Consensus | --A----- -----T TCG---C--- -T--CTC--- ---T----- C----- | |
| | | 421 | 480 |
| | ps.msf{padfc} | <u>tc-tcgaaag</u> -tcagaaat- -atg-.tcgt g-atgaac-- -ga...tttc t-gtctttg- | |
| 50 | ps.msf{pcdfg} | tt-gttcaga -actgaacc- -gaa..tttg c-ttggcg-- -gagccagtc a-aggatat- | |
| | ps.msf{xmdfa} | ag-gtgaggt -ggtagttc- -gtc-accga g-cccacc-- .ctctgaa t-acgcata- | |
| | Consensus | --G----- C-----G A--T----- -A-----AT T----- -G-----C | |
| | | 481 | 540 |
| 55 | ps.msf{padfc} | -cca--.... .ac...gtt -t-t-aa-a- tc--....g tat--.... .g-t-...-a | |
| | ps.msf{pcdfg} | -aca--tatc ggc-gtcgtt -t-t-ac-a- ct--aagaag taa--aattt gg-t-gcg-a | |
| | ps.msf{xmdfa} | -ttc--tct. ...-tatacg -a-c-gc-c- gt--ctggta cgt--tcttt ta-a-ctt-t | |
| | Consensus | A---GA---- -T----- C-T-A--A-T --GG----- --GT----- --A-A--G- | |

1007445_024401

Figure 18 -continued

```

5          541                                     600
ps.msf{padfc} ag.....ta- -actga.atg ..at--c-tt cactg--ga- cat.tca-gt caaggt-aa.
ps.msf{pcdfg} agcgtcttg- -atggacgtg gaaa--a-cc ggggtt--ga- tgtatcg-tg tatctc-ag.
ps.msf{xmdfa} gacgtagcg- -cgtttgaga tgtt--a-ca gacgt--cg- gaggcta-gg cgagag-cgc
Consensus -----A G----- --CT-T-- -----GT--T -----A-- -----A--

10

15          601                                     660
ps.msf{padfc} -t.ttg-.ga gt-c.aa-cg cg....a--- ....-t-.-. -gaatg.tc gtcttcacag
ps.msf{pcdfg} -tgatt-.ga ac-ctaa-tt tgactca--- ggaa-a.-. -acaacgcga gaactcaacc
ps.msf{xmdfa} -agtct-ttt at-gatt-ag tcgttat--- cgta-c-g-- -tttgtaccc cggggtcgtg
Consensus A-----C--- --T---G-- -----ATT ----T-C-GG C-----

20          661                                     720
ps.msf{padfc} -a---c.. -attgct-gg g-----t-- -----t---g ---c---tac -----
ps.msf{pcdfg} -g---g.. -acagac-. c-----g-- -----c---c ---t---tgt -----
ps.msf{xmdfa} -g---cca- -gcaact-gc g-----t-- -----c---t ---c---cac -----
Consensus T-TAAC---A G-----T-- -GTTATA-GG TCAAG-GAA- AAG-GCA--- GGTGGATGCC

25

          721                                     737
ps.msf{padfc} -----
ps.msf{pcdfg} -----
ps.msf{xmdfa} -----
30 Consensus TTGGCRRTCA SAGGCGA

```

204720-04400

Figure 19. Aligement between *Pseudomonas aeruginosa* (ps.msf{padfc}) (SEQ ID NO 80), *Burkholderia cepacia* (ps.msf{pcdfg}) (SEQ ID NO 81) and *Stenotrophomonas maltophilia* (ps.msf{xmdfa}) (SEQ ID NO 82), as in Figure 18 but without consensus sequence.

```

5      Symbol comparison table: GenRunData:pileupdna.cmp  CompCheck: 6876

          GapWeight: 1
        GapLengthWeight: 1

10      ps.msf  MSF: 737  Type: N
        Name: padfc          Len:   737  Check: 1233  Weight:  1.00
        Name: pcdfg          Len:   737  Check:  773  Weight:  1.00
        Name: xmdfa          Len:   737  Check: 3019  Weight:  1.00

15      //

        1                                     50
        padfc  GCCCGTCACA CCATGGGAGT GGGTTGCTCC AGAAGTAGCT AGTCTAACCG
        pcdfg  GCCCGTCACA CCATGGGAGT GGGTTTTACC AGAAGTGGCT AGTCTAACCG
20      xmdfa  GCCCGTCACA CCATGGGAGT TTGTTGCACC AGAAGCAGGT AGCTTAACCT

        51                                     100
        padfc  CAAGGGGGAC GGTTACCACG GAGTGATTCA TGACTGGGGT GAAGTCGTAA
        pcdfg  CAAGGAGGAC GGTCACCACG GTAGGATTCA TGACTGGGGT GAAGTCGTAA
25      xmdfa  TCGGGAGGGC GCTT.GCACG GT.GCTGCGA TGACTGGGGT GAAGTCGTAA

        101                                    150
        padfc  CAAGGTAGCC GTAGGGGAAC CTGCGGCTGG ATCACCTCCT TAATCG..AA
        pcdfg  CAAGGTAGCC GTATCGGAAG GTGCGGCTGG ATCACCTCCT TTCCAG..AG
30      xmdfa  CAAGGTAGCC GTATCGGAAG GTGCGGCTGG ATCACCTCCT TTTGAGCAAA

        151                                    200
        padfc  GATCTCAGCT TCTTCATAAG CTCCCACACG AAT.TGCTTG ATTCACTGGT
        pcdfg  CTTCTC.GC. ACAAGTTGAG CGCTCACGCT TATCGGCTGT AAATTAAGA
35      xmdfa  GACAGCATCG TCCTGTCTGGG CGTCTTCACA AAGTACCTGC ATTCAGAGAA

        201                                    250
        padfc  T..AGACGAT TGGGTCTGTA GCTCAGTTGG TTAGAGCGCA CCCCTGATAA
        pcdfg  C..AGACTCA GGGGTCTGTA GCTCAGTCGG TTAGAGCACC GTCTTGATAA
40      xmdfa  TCACAACGGC CAGGCCGATG TGAGAGTCCC TTTTGGGCCT TAGCTCAGCT

        251                                    300
        padfc  GG.TGAGGTC GGCAGTTCGA ATCTGCCCAG ACCCACCAAT ...TGTTGGT
        pcdfg  GGCAGGGGTC GTTGGTTTGA ATCCAACCAG ACCCACCATT GTCTGGCGGT
45      xmdfa  GGGAGAGCAC CTGCTTTGCA AGCAGGGGTC GTCGGTTCGA TCCCACAG.

        301                                    350
        padfc  GTGCTGCGTG ATCCGA.... .TAC...GGG CCATAGCTCA GCTGGGAGAG
        pcdfg  AACACACCTG AGGCAAATCT GTACATGGGG GCATAGCTCA GCTGGGAGAG
50      xmdfa  CTCCACCATG TTCGAGCTGT ATACCGAAGT CCCTTTCGAA G.AGCCCGCA

        351                                    400
        padfc  CGCCTGCTTT GCACGCAGGA GGTGAGGAGT TCGATCCTCC TTGGCTCCAC
        pcdfg  CACCTGCTTT GCAAGCAGG. GGTGCTCGGT TCGATCCCGT CTGCCTCCAC
55      xmdfa  CATCCATGTG CTACTTTTTG AAAAAGCCTT TCGGGTCTG. .TAGCTCAGG

```

10074246-021403

401 450
padfc C.ATCTAAAA C...AA.... TCGTCGAAAG CTCAGAAATG AATGT.TCGT
pcdfg CAATCACCAA CGCTAAGGGC TTGGTTCAGA CACTGAACCG AGAAT.TTTG
xmdfa TGGTTAGACG CACCCTGATA AGGGTGAGGT CGGTAGTTCG AGTCTACCCA

5

451 500
padfc GAATGAACAT TGA...TTTC TGGTCTTTGC ACCAGA.... .ACT...GTT
pcdfg CATTGGCGAT TGAGCCAGTC AGAGGATATC AACAGATATC GGCTGTCTGTT
xmdfa GACCCACCAT T..CTCTGAA TGACGCATAC ATTCGATCT. ...TTATACG

10

501 550
padfc CTTTAAAAAT TCGG.....G TATGT..... .GATA...GA AG.....TAA
pcdfg CTTTAACAAT CTGGAAGAAG TAAGTAATTT GGATAGCGGA AGCGTCTTGA
xmdfa CATCAGCACT GTGGCTGGTA CGTGTTCTTT TAAAACTTGT GACGTAGCGA

15

551 600
padfc GACTGA.ATG ..ATCTCTTT CACTGGTGAT CAT.TCAAGT CAAGGTAAA.
pcdfg GATGGACGTG GAAACTATCC GGGTTGTGAT TGTATCGATG TATCTCAAG.
xmdfa GCGTTTGAGA TGTTCATCA GACGTGTCGT GAGGCTAAGG CGAGAGACGC

20

601 650
padfc AT.TTGC.GA GTTC.AAGCG CG....AATTTTC.GG C.GAATG.TC
pcdfg ATGATTC.GA ACTCTAAGTT TGA CTCAATT GGAATAC.GG CACAACGCGA
xmdfa AAGTCTCTTT ATTGATTGAG TCGTTATATT CGTATCCGGG CTTTGTACCC

25

651 700
padfc GTCTTCACAG TATAACC..A GATTGCTTGG GGTTATATGG TCAAGTGAAG
pcdfg GAACTCAACC TGTAACG..A GACAGACT.. CGTTATAGGG TCAAGCGAAT
xmdfa CCGGGTCGTG TGTAACCCAA GGCAACTTGC GGTTATATGG TCAAGCGAAT

30

701 737
padfc AAGCGCATAC GGTGGATGCC TTGGCRRTCA SAGGCGA
pcdfg AAGTGCATGT GGTGGATGCC TTGGCRRTCA SAGGCGA
xmdfa AAGCGCACAC GGTGGATGCC TTGGCRRTCA SAGGCGA

35

10074246-021402